

DISSERTATION

Das Fibrinogenmolekül und sein
Verhalten in Lösung.

HERBERT ENDE

Mainz 1956





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554410_0001

Meinen Eltern

in Dankbarkeit und Verehrung gewidmet.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von September 1954 bis April 1956 im Institut für physikalische Chemie der Johannes Gutenberg - Universität in Mainz ausgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. G. V. Schulz, danke ich herzlich für die Themenstellung sowie für seine wertvollen Ratschläge und stete Förderung dieser Arbeit.

Herrn Privatdozenten Dr. habil. G. Meyerhoff und Herrn Dr. H.-J. Cantow bin ich für fruchtbare Diskussionen sehr zu Dank verpflichtet.

Das Fibrinogenmolekül und sein Verhalten in Lösung.

D i s s e r t a t i o n

z u r E r l a n g u n g d e s D o k t o r g r a d e s

bei der Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Johannes Gutenberg-Universität

zu Mainz

Herbert Ende

geboren in Düsseldorf / Rheinland

Mainz 1956



Dekan: Professor Dr. H. F a l k e

Berichterstatter: Professor Dr. G. V. S c h u l z

Berichterstatter: Professor Dr. H. A. S t u a r t

Tag der mündlichen Prüfung:

Datum des Diploms 12. 12. 1956

Inhaltsverzeichnis

	Seite:
I. Einleitung.	
1.) Präparat.	8
2.) Zielsetzung.	8
II. Herstellung der Pufferlösungen.	
1.) Grundlagen.	
a) Der Veronal-Acetat-Natriumchloridpuffer.	12
b) Der Kaliumphosphatpuffer.	14
c) Der Acetatpuffer.	20
2.) p_H -Messung und p_H -Messgerät.	22
III. Sedimentations- und Diffusionsmessungen.	
1.) Grundlagen.	
a) Bestimmung des Molekulargewichtes.	26
b) Bestimmung des B-Wertes.	27
c) Bestimmung des Achsenverhältnisses.	29
d) Über die Auswertung von Sedimentations- und Diffusions-Messungen.	31
2.) Für die Messungen verwendete Apparaturen.	
a) Die Ultrazentrifuge.	36
b) Die Diffusionszelle.	37
c) Die Auswertegeräte für Sedimentation und Diffusion.	38
3.) Messung der Viskosität der Pufferlösungen.	39
4.) Messung der Dichte der Pufferlösungen.	40
5.) Messung der Sedimentations- und Diffusionskonstanten.	
a) Abhängigkeit der Sedimentationskonstanten von der Konzentration und dem p_H -Wert.	40
b) Abhängigkeit der Diffusionskonstanten von der Konzentration und dem p_H -Wert.	47

6.) Auswertung der Ergebnisse.	
a) Das Molekulargewicht.	50
b) Die K_s - und K_D -Konstanten.	51
c) Der B-Wert.	52
d) Das Achsenverhältnis und die absoluten Abmessungen des Moleküls.	54
e) Zusammenfassung der Ergebnisse aus III.	55

IV. Lichtzerstreuungsmessungen.

1.) Grundlagen.	
a) Das Molekulargewicht und die äusseren Abmessungen des Moleküls.	59
b) Die Bestimmung des 2. und 3. Virialkoeffizienten des osmotischen Druckes aus Lichtzerstreuungsmessungen.	63
c) Berechnung der thermodynamischen Daten aus Messungen der Temperaturabhängigkeit der Lichtzerstreuung.	65
2.) Verwendete Apparaturen.	
a) Lichtzerstreuungsapparatur für einen Messwinkel von 90° .	70
b) Lichtzerstreuungsapparatur nach Cantow für Messungen bei verschiedenen Winkeln.	72
c) Der Thermostat.	72
d) Präparative Ultrazentrifuge.	72
3.) Messung der Brechungsinkremente und Brechungsindizes.	
a) Die Apparatur.	73
b) Brechungsinkrement der Lösung und Brechungsindex des Lösungsmittels in Abhängigkeit von Wellenlänge und Temperatur.	74
c) Die r - Werte.	78
d) Die K - Werte.	79

	Seite:
4.) Messung der Lichtzerstreuung.	
a) Optische Reinigung der Lösungen.	80
b) Wellenlängen- und Temperaturabhängigkeit der Lichtzerstreuung, gemessen bei einem Streu- winkel von 90° .	81
c) Winkelabhängigkeit der Lichtzerstreuung.	91
5.) Auswertung der Messergebnisse.	
a) Das Molekulargewicht und die absoluten Abmes- sungen des Moleküls.	93
b) Die thermodynamischen Exzessgrößen.	94
 V. Elektronenmikroskopie.	
1.) Das Elektronenmikroskop.	104
2.) Die Aufdampfapparatur.	104
3.) Die Objektträger.	105
4.) Die Versuchsbedingungen.	112
5.) Die Auswertung der Aufnahmen.	112
 VI. Zusammenfassung.	117
 VII. Anmerkungen.	119
 VIII. Anhang.	120
 IX. Literatur.	133

I. Einleitung.

1.) Präparat.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit physikalisch-chemischen Messungen an Rinderfibrinogen. Zur Verwendung kam das in der vorangegangenen Diplomarbeit (1) beschriebene Präparat K-I-A-4. Von dieser Fraktion wurden seinerzeit im Rahmen der Diplomarbeit etwa 6 g in trockener Form mit einer Reinheit von nahezu 100 % Rinderfibrinogen hergestellt. Das Präparat, welches nach der in der Diplomarbeit beschriebenen Vorschrift aufbewahrt wurde und laufend durch Analysen auf seine Reinheit geprüft wurde, zeigte innerhalb von zweieinhalb Jahren keinerlei Veränderungen. Es schien daher für die vorliegende Arbeit besonders geeignet zu sein.

2.) Zielsetzung.

Seit 1940, teilweise auch schon davor, wurden viele Versuche unternommen, die physikalisch-chemischen Daten (Molekulargewicht, Länge, Durchmesser, Dichte usw.) mit Hilfe der verschiedensten Messmethoden (osmotischer Druck, Viskosität, Lichtzerstreuung, Ultrazentrifuge, Diffusion, Elektronenmikroskop und andere mehr) sowohl vom Menschen- als auch vom Rinder-Fibrinogen zu bestimmen. (2-60). Bei kritischer Prüfung der Arbeiten fällt jedoch die besonders grosse Diskrepanz der Ergebnisse auf. Einerseits scheint das an der mangelnden Reinheit der jeweils vorliegenden Präparate zu liegen. Andererseits ist bemerkenswert, dass viele Autoren keine Konzentrationsabhängigkeit der physikalisch-chemischen Messgrößen untersucht haben, d. h. sie setzten ideales Verhalten ihrer Lösungen voraus. Hinzu kommt noch, dass jeder Autor von dem anderen unterschiedliche Puffer für die Herstellung der Lösung verwendete. So unterscheiden sich die Lösungen in der Art, im p_H -Wert und in der Ionenstärke. Daher kommt es, dass die Ergebnisse tatsächlich nicht untereinander vergleichbar sind; denn als Polyelektrolyt besitzt das Fibrinogen die Eigenschaft, bei Variation der Ladungen mehr oder weniger zu assoziieren. Auch ändert sich bei Variation der Ladungen und Ionenstärke die

Wechselwirkung zwischen Lösungsmittel und Gelöstem. Diese Einflüsse machen sich bei den physikalisch-chemischen Messgrößen bemerkbar und verfälschen somit das Ergebnis.

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit sollte daher zunächst sein, den Einfluss der Puffervariation auf die Molekulargewichtsbestimmung und im Zusammenhang damit auf die Bestimmung der äusseren Abmessungen des Fibrinogenmoleküles zu untersuchen. Für diese Messungen wurde Diffusion und Sedimentation herangezogen. In diesem Zusammenhang war die Frage interessant, inwieweit sich der B- bzw. C-Wert in Abhängigkeit vom p_H -Wert ändert. Da bisher keine Konzentrationsabhängigkeit der Diffusionskonstante des Fibrinogens gemessen worden ist, sollte durch die sorgfältige Durchführung solcher Messungen in vorliegender Arbeit eine empfindliche Lücke in der Literatur geschlossen werden.

Die durch die Messungen der Sedimentation und Diffusion erhaltenen Ergebnisse sollten dann mit Lichtzerstreuungsmessungen verglichen werden, jedoch nur bezüglich des Molekulargewichtes und der äusseren Abmessungen des Fibrinogenmoleküls. Hierzu sollte es genügen, die Messungen bei nur einem p_H -Wert durchzuführen. Zur Fundamentierung der Ergebnisse sollten die Abmessungen des Fibrinogenmoleküls sowohl durch Wellenlängenabhängigkeit als auch durch Winkelabhängigkeit der Lichtzerstreuung bestimmt werden. Durch die Messung der Temperaturabhängigkeit der Lichtzerstreuung sollte gleichzeitig versucht werden, Einblick in die Thermodynamik der Fibrinogenlösung zu gewinnen.

Einen Teil der vorliegenden Arbeit sollten ausserdem Untersuchungen mit dem Elektronenmikroskop bilden. Sie sollten die durch Messung der Sedimentation und Diffusion, sowie durch Lichtzerstreuung gefundenen Ergebnisse bestätigen. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden bei den Zeiss-Werken in Oberkochen durchgeführt ¹⁾.

Formelzeichen zu II.

$T/2$	: Ionenstärke
c	: Konzentration eines Iones in [Mol/Liter]
z	: Ladung eines Iones
$[H^+]$	: Molare Wasserstoffionenkonzentration [Mol/Liter]
$[Na^+]$	: " Natrium- " " "
$[V^-]$	: " Diäthylbarbiturat-Ionenkonzentration [Mol/Liter]
$[Ac^-]$	: " Acetat- " " "
$[Cl^-]$	: " Chlorid- " " "
$[HV]$	: " Diäthylbarbitursäure-Konzentration "
$[HA]$	: " Essigsäure- " "
$[VNa]$	: " Veronalnatrium- " "
$[NaAc]$	: " Natriumacetat- " "
$[NaCl]$	: " Natriumchlorid- " "
$[HCl]$	: " Salzsäure- " "
$[H_2PO_4^-]$	: " Dihydrogenphosphation- " "
$[HPO_4^{--}]$	: " Hydrogen " " "
$[KH_2PO_4]$	: " Kaliumdihydrogenphosphat- " "
$[K_2HPO_4]$	: " Kaliumhydrogenphosphat- " "
K_V	: Dissoziationskonstante der Diäthylbarbitursäure
K_{Ac}	: " " " Essigsäure
K_a	: " " " einer Säure
$K_{a,P}$	: 2. " " der Phosphorsäure
a_{H^+}	: Aktivität des Wasserstoffions
a_{A^-}	: " " Anions
a_{HA}	: " " einer Säure
γ_{A^-}	: Aktivitätskoeffizient eines Anions
γ_{HA}	: " " " einer Säure
$\gamma_{H_2PO_4^-}$	: " " " des Dihydrogenphosphations
$\gamma_{HPO_4^{--}}$	: " " " Hydrogenphosphations

- x : Molenbruch von KH_2PO_4
- c_m : Molare Konzentration des gesamten in einer Lösung vorliegenden Phosphates.

II. Herstellung der Pufferlösungen.

1.) Grundlagen.

Die notwendigen definierten Bedingungen, bei denen die physikalisch-chemischen Messungen durchgeführt werden sollten, machten es erforderlich bezüglich Ionenstärke und p_H -Wert genau definierte Pufferlösungen herzustellen. In der Literatur beziehen sich die Angaben über die Herstellung der Pufferlösungen meist nur auf den p_H -Wert und nicht auf die Ionenstärke (61, 62, 63, 64). Die wenigen Autoren, die gleichzeitig p_H -Wert und Ionenstärke angeben, tun dies oft nur für einen einzelnen Puffer oder wählen einen speziellen, für sie wichtigen Bereich heraus. In dieser Arbeit sind daher, um von vornherein jederzeit auf einen geeigneten Puffer mit definiertem p_H -Wert und Ionenstärke zurückgreifen zu können, für drei verschiedene Puffersysteme die Herstellungsbedingungen berechnet worden, wobei soweit wie möglich die Literaturangaben mit verwendet wurden (65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75).

a) Der Veronal-Acetat-Natriumchloridpuffer.

Michaelis (75) gibt einen Veronal-Acetat-Puffer für einen p_H -Bereich von 2 - 9,5 an. Jedoch variiert hier die Ionenstärke, wenn man sie berechnet, in unregelmässiger Weise. Da man erwarten kann, dass sich der p_H -Wert mit Zugabe von Natriumchlorid nur wenig ändert, kann man die Ionenstärke jedoch mit Natriumchlorid steuern. Die Änderung des p_H -Wertes muss dann gemessen werden.

Der Puffer enthält folgende Ionen: H^+ , Na^+ , V^- , Ac^- und Cl^- . Allgemein gilt für die Ionenstärke:

$$T/2 = 1/2 \sum c z^2 \quad (1)$$

Setzen wir die in unserem Puffer vorkommenden Ionenkonzentrationen ein, so erhalten wir:

$$T = [H^+] + [Na^+] + [V^-] + [Ac^-] + [Cl^-] \quad (2)$$

Für die Na-Ionenkonzentration gilt:

$$[\text{Na}^+] = [\text{VNa}] + [\text{NaAc}] + [\text{NaCl}] \quad (3)$$

$[\text{H}^+]$ ergibt sich aus dem p_{H} -Wert.

Ferner ist:

$$[\text{V}^-] = [\text{NaV}] - [\text{HV}] \quad (4a)$$

Und hieraus:

$$[\text{NaV}] = [\text{V}^-] + [\text{HV}] \quad (4b)$$

Auf Grund des Massenwirkungsgesetzes gilt

$$[\text{V}^-] = \frac{K_V [\text{HV}]}{[\text{H}^+]} \quad (5a) \text{ worin } [\text{HV}] = [\text{NaV}] - [\text{V}^-] \quad (4c)$$

somit

$$[\text{V}^-] = \frac{K_V ([\text{NaV}] - [\text{V}^-])}{[\text{H}^+]} \quad (5b)$$

nach $[\text{V}^-]$ aufgelöst:

$$[\text{V}^-] = \frac{K_V [\text{NaV}]}{[\text{H}^+] + K_V} \quad (5c)$$

Analog lässt sich zeigen, dass

$$[\text{A}^-] = \frac{K_{\text{Ac}} [\text{NaAc}]}{[\text{H}^+] + K_{\text{Ac}}} \quad (6)$$

Für die Chlorionenkonzentration gilt:

$$[\text{Cl}^-] = [\text{NaCl}] + [\text{HCl}] \quad (7)$$

Setzen wir (3), (5c), (6) und (7) in (2) ein, so erhalten wir:

$$\begin{aligned} \mathcal{T} = & [\text{H}^+] + [\text{VNa}] + [\text{NaAc}] + 2[\text{NaCl}] + \frac{K_V [\text{NaV}]}{[\text{H}^+] + K_V} + \frac{K_{\text{Ac}} [\text{NaAc}]}{[\text{H}^+] + K_{\text{Ac}}} + \\ & [\text{HCl}] \end{aligned} \quad (8)$$

$[H^+]$ ist im ganzen p_H -Bereich klein gegenüber den anderen Konzentrationen. $[H^+]$ selbst kann daher vernachlässigt werden.

Für $\frac{K_V [NaV]}{[H^+] + K_V}$ und $\frac{K_{Ac} [NaAc]}{[H^+] + K_{Ac}}$ kann man dann auch näherungsweise $[NaV]$ und $[NaAc]$ setzen.

Da sich bei Zugabe von HCl äquivalent viel undissoziiertes EV und HA bildet, wird die Ionenstärke aus HCl kompensiert. $[HCl]$ fällt daher weg. Berücksichtigen wir die Näherungen, so erhalten wir für

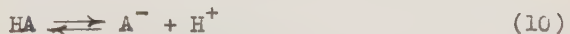
$$\tau/2 = [VNa] + [NaAc] + [NaCl] \quad (9)$$

Die Gleichung (9) wurde für die Berechnung der Herstellungsbedingungen dieses Puffers zu Grunde gelegt.

b) Der Kaliumphosphatpuffer.

Der Kaliumphosphatpuffer ist eine Lösung eines Gemisches von primärem und sekundärem Kaliumphosphat. Der p_H -Bereich liegt zwischen 5,4 und 7,8, und der Puffer eignet sich deshalb besonders gut für Proteinlösungen.

Allgemein lässt sich für die Dissoziation einer schwachen Säure, etwa nach dem Schema



auf Grund des Massenwirkungsgesetzes schreiben

$$\frac{a_{H^+} a_{A^-}}{a_{HA}} = K_a \quad (11)$$

wobei hier allgemein HA für eine schwache Säure und A^- für dessen Anion gesetzt sei. Bezeichnen wir noch $[A^-]$ und $[HA]$ als deren entsprechende stöchiometrischen Konzentrationen, so gilt für die Aktivitätskoeffizienten

$$\gamma_{A^-} = \frac{a_{A^-}}{[A^-]} \quad \text{und} \quad \gamma_{HA} = \frac{a_{HA}}{[HA]} \quad (12a \text{ u. } b)$$

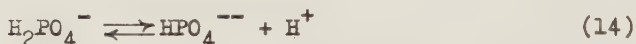
(12a) in (11) eingesetzt ergibt

$$\frac{a_{H^+} [A^-] \gamma_{A^-}}{a_{HA}} = K_a \quad (13)$$

oder

$$\frac{a_{H^+} [A]}{a_{HA}} = \frac{K_a}{A^-} = K_a' \quad (13a)$$

Im vorliegenden Phosphatpuffersystem fungiert die Dihydrogenphosphorsäure als schwache Säure, indem sie über die 2. Dissoziationskonstante der Phosphorsäure im Gleichgewicht mit der Monohydrogenphosphorsäure steht, also



Wenden wir auch hier wieder das Massenwirkungsgesetz an, so erhalten wir für die 2. Dissoziationskonstante der Phosphorsäure

$$\frac{a_{H^+} a_{HPO_4^{--}}}{a_{H_2PO_4^-}} = K_{a,P} \quad (15)$$

Die Aktivitäten der univalenten und bivalenten Ionen können dem Produkt aus ihren stöchiometrischen Konzentrationen und ihren Aktivitätskoeffizienten $\gamma_{H_2PO_4^-}$ und $\gamma_{HPO_4^{--}}$ gleichgesetzt werden.

$$a_{H_2PO_4^-} = \gamma_{H_2PO_4^-} \cdot [H_2PO_4^-] \quad (16a)$$

und

$$a_{HPO_4^{--}} = \gamma_{HPO_4^{--}} \cdot [HPO_4^{--}] \quad (16b)$$

Kombiniert man (15) mit (16a) und (16b), so erhält man

$$\frac{a_{H^+} [HPO_4^{--}] \gamma_{HPO_4^{--}}}{[H_2PO_4^-] \gamma_{H_2PO_4^-}} = K_{a,P} \quad (17)$$

Man kann (17) auch in logarithmischer Form schreiben und

erhält dann die hier auf die 2. Dissoziationsstufe der Phosphorsäure spezialisierte, sonst allgemein als Henderson-Hasselbach'sche bekannte Gleichung

$$p_{H^+} + \log \left(\frac{[H_2PO_4^-]}{[HPO_4^{--}]} \right) = p_K - \log \frac{\gamma_{H_2PO_4^-}}{\gamma_{HPO_4^{--}}} = p_K' \quad (18)$$

Debye und Hückel haben gezeigt, (76, 77), dass der negative Logarithmus des Aktivitätskoeffizienten durch die Beziehung

$$-\log \gamma = 0,5 z^2 \sqrt{T/2} \quad (19)$$

ausgedrückt werden kann. Der Faktor 0,5 enthält die Boltzmann'sche Konstante, absolute Temperatur und Dielektrizitätskonstante und ist hier also nur eine rohe Näherung für Normalbedingungen.

Für höhere Konzentrationen ergibt sich ein Zusatzterm, und zwar

$$-\log \gamma = \frac{0,5 z^2 \sqrt{T/2}}{1 + \chi b} \quad (20)$$

wobei χ nach Debye-Hückel (76) $0,33 \cdot 10^8 \sqrt{T/2}$ ist. b ist der wirksame Durchmesser des Ions in Lösung.

Die vorliegende Phosphatmischung enthält uni- und bivalente Ionen. Für das univalente Phosphat mit $z = 1$ gilt

$$-\log \gamma_{H_2PO_4^-} = \frac{0,5 \sqrt{T/2}}{1 + \chi b} \quad (20a)$$

und für das bivalente

$$-\log \gamma_{HPO_4^{--}} = \frac{2,0 \sqrt{T/2}}{1 + \chi b} \quad (20b)$$

Kombination von (20a) und (20b) ergibt

$$\log \left(\frac{\gamma_{H_2PO_4^-}}{\gamma_{HPO_4^{--}}} \right) = \frac{1,5 \sqrt{T/2}}{1 + \chi b} \quad (21)$$

Substituiert man (21) in (18), so erhält man

$$p_{H^+} + \log \left(\frac{[H_2PO_4^-]}{[HPO_4^{--}]} \right) = p_K - \frac{1,5 \sqrt{T/2}}{1 + \chi b} = p_K', \quad (22)$$

Der in der Gleichung (22) noch unbekannte b -Wert kann bestimmt werden, indem man zunächst durch eine Verdünnungsreihe (steigende Verdünnung, abfallendes $\sqrt{T/2}$) bei gleicher molarer Konzentration von $[H_2PO_4^-]$ und $[HPO_4^{--}]$ (Verhältnis

1:1) den $\log \left(\frac{[H_2PO_4^-]}{[HPO_4^{--}]} \right)$ Null werden lässt und somit durch

graphische Extrapolation ($\sqrt{T/2} = 0$ im $p_K, -\sqrt{T/2}$ - Diagramm)

p_K erhält. b wird dann für dieses Mischungsverhältnis

$[H_2PO_4^-] : [HPO_4^{--}] = 1:1$ gleich $5 \cdot 10^{-8}$ cm (mit $p_K = 7,16$)

(s.a.65). Bezeichnen wir das Mischungsverhältnis

$\frac{[H_2PO_4^-]}{[HPO_4^{--}]}$ mit R , so erhalten wir für verschiedene R folgende

b -Werte:

Tabelle 1

R	b
9	2,5 10^{-8} cm
5	2,9 " "
3	3,4 " "
2	3,9 " "
1	5,0 " "

Cohn (65), der Messungen an Phosphat-Puffern vornahm, fand, dass sich die aus der Gleichung berechneten Kurven

$\log \frac{[H_2PO_4^-]}{[HPO_4^{--}]}$ in Abhängigkeit von $\sqrt{T/2}$ recht gut mit den

experimentell gefundenen Werten bis $R = 1$ decken. Für niedrigere R -Werte traten jedoch grössere Abweichungen auf. Es zeigte sich, dass noch ein Zusatzterm notwendig war, um im Bereich zwischen $R = 9$ und $R = 1/8$ Übereinstimmung der experimentellen und berechneten Werte zu erlangen. An Stelle von (19) wird eingeführt

$$-\log \gamma = \frac{0,5 z^2 \sqrt{T/2}}{1 + \gamma b} - K_s T/2 \quad (23)$$

K_s ist hier die sogenannte Aussalzkonstante.

Speziell wird für unser Phosphatpuffersystem gute Deckung der Kurven mit den experimentell gefundenen Werten erreicht, wenn für b ein fester Wert von $4,5 \cdot 10^{-8}$ cm angenommen wird. Jetzt ändert sich K_s mit R , und zwar wie folgt:

Tabelle 2

R	K_s
9	-0,25
5	-0,18
3	-0,11
2	-0,05
1	+0,03
1/2	+0,07
1/8	+0,12

Aus den Gleichungen (22) und (23) lässt sich, bei Berücksichtigung des Vorhergesagten, die endgültige Form der Gleichung für Berechnung des vorliegenden Puffersystems ableiten:

$$p_{H^+} + \log \left(\frac{[H_2PO_4^-]}{[HPO_4^{--}]} \right) = 7,16 - \frac{1,5 \sqrt{T/2}}{1 + 1,5 \sqrt{T/2}} + K_s T/2 \quad (23a)$$

Cohn hat in seiner Arbeit (65) die auf Grund seiner p_H -Messungen über die Gleichungen (23) und (23a) berechenbaren Aktivitätskoeffizienten in Abhängigkeit von der Ionenstärke tabelliert angegeben. Die p_H -Werte selbst fehlen jedoch. Diesem Mangel hat später Green (71) dahingehend abgeholfen, dass er graphische Darstellungen angibt, die die gegenseitige Abhängigkeit von vier verschiedenen Grössen: Molenbruch von KH_2PO_4 , totale molare Phosphatkonzentration, Ionenstärke und p_H , in einem Bild zeigt. Die graphischen Darstellungen

geben zwar einen guten Überblick, sind aber wegen des zu kleinen Maßstabes für den praktischen Gebrauch nur bedingt brauchbar. Die angegebenen Tabellen sind auf ganzzahlige p_H -Werte abgestimmt und machen keine Angaben über Ionenstärke. Auch sind die Herstellungsbedingungen nicht direkt ablesbar. Es erschien daher zweckmässig, neue und übersichtlichere Tabellen aufzustellen, um jederzeit auf einen Puffer mit definierten Eigenschaften (p_H , $T/2$) zurückgreifen zu können. Dabei wurden die Tabellen auf ganzzahlige (glatte Zahlenwerte bis eine Stelle hinter dem Komma) $T/2$ -Werte abgestimmt, wodurch nicht ganzzahlige p_H -Werte resultierten. Das erschien zweckmässiger, weil in der gesamten modernen Literatur glatte Zahlenwerte für die Ionenstärken angegeben werden. Die Tabellen wurden aus den Cohn'schen R-Werten und den Aktivitätskoeffizienten über die Gleichungen (23) und (23a) berechnet. Ausserdem gehen noch folgende Beziehungen in die Berechnung ein:

Für die Ionenstärke des Phosphatpuffers gilt

$$T/2 = [KH_2PO_4] + 3 [K_2HPO_4] \quad (24)$$

Der Molenbruch von KH_2PO_4 ist definiert als

$$x = \frac{[KH_2PO_4]}{[KH_2PO_4] + [K_2HPO_4]} \quad (25)$$

wobei

$$[KH_2PO_4] + [K_2HPO_4] = c_m \quad (26)$$

also gleich der gesamten Phosphatkonzentration ist. Aus (25) ergibt sich durch Umformung

$$\frac{[KH_2PO_4]}{[K_2HPO_4]} = \frac{1}{x} - 1 = \frac{[H_2PO_4^-]}{[HPO_4^{--}]} \quad (27)$$

Kombination von (24), (25) und (26) ergibt

$$c_m = \frac{T/2}{1 + 2x} \quad (28)$$

und hieraus

$$x = \frac{T/2 - c_m}{2 c_m} \quad (28a)$$

Ferner lässt sich zeigen, dass

$$[K_2HPO_4] = \frac{x T/2}{1 + 2x} \quad (29)$$

und

$$[KH_2PO_4] = \frac{T/2 (1 - x)}{1 + 2x} \quad (30)$$

ist.

Bei der Herstellung der Phosphatpufferlösungen wird von prim. Kaliumphosphat ausgegangen. Zu einer genau eingestellten Lösung prim. Kaliumphosphat wird eine bestimmte Menge eingestellter Kaliumhydroxydlösung gegeben, wobei sich nach



äquivalente Mengen sec. Kaliumphosphat bilden.

c) Der Acetatpuffer.

Der Acetatpuffer, der aus einer Mischung von Essigsäure und Natriumacetat besteht, hat einen p_H -Bereich von etwa 3,6 - 5,7. Er schafft somit in idealer Weise den Anschluss an den Phosphatpuffer zu den niedrigeren p_H -Werten.

Es lässt sich zeigen, dass man durch ähnliche Überlegungen, wie sie im vorhergehenden Abschnitt für den Phosphatpuffer gemacht wurden, zur quantitativen Beschreibung der Verhältnisse des Acetatpuffers für diesen die folgende Gleichung gilt (s.a.71):

$$p_H + \log \frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = p_K - \frac{0,5 z^2 \sqrt{T/2}}{1 + \chi b} + K_s T/2 \quad (32)$$

$$= 4,77 - \frac{0,5 \sqrt{T/2}}{1 + \chi b} - 0,16 T/2$$

K_s nimmt hier den festen Wert von 0,16 an, während b sich

mit $R = \frac{[CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]}$ bzw. dem Molenbruch $x = \frac{[CH_3COONa]}{[CH_3COONa] + [CH_3COOH]}$

ändert. Cohn, Heyroth und Menkin (66) geben hierfür folgende Werte an:

Tabelle 3

x	b
0,1	0,3 10^{-8} cm
0,2	0,7 " "
0,5	1,0 " "
0,8	1,2 " "
0,9	1,5 " "

χ hat hier wieder den Wert von $\chi = 0,33 \cdot 10^8$. Auch beim Acetatpuffer wurde von Green eine graphische Darstellung, die Molenbruch, totale molare Acetatkonzentration, Ionenstärke und p_H miteinander verknüpft, angegeben (71). Neben dem von Boyd (73) publizierten Nomogramm für den gleichen Puffer gibt das Diagramm einen guten Überblick, ist aber aus den bereits erwähnten Gründen praktisch nur begrenzt brauchbar. Die von Green mitaufgeführte Tabelle ist wiederum auf glatte p_H -Werte abgestimmt und sagt nichts über die Ionenstärke aus. Deshalb wurde auch beim Acetatpuffer unter Verwendung von Gleichung (32) und Tabelle 3 eine neue Tabelle aufgestellt, die die genauen Daten für eine saubere Herstellung dieses Puffers enthält.

Die Ionenstärke kann beim Acetatpuffer gleich der molaren Natriumacetatkonzentration gesetzt werden.

2.) p_H -Messung und p_H -Messgerät.

Für die p_H -Messungen kam ein p_H -Gerät der Firma Radiometer, Modell FM 22, zur Verwendung. Als Elektroden dienten eine Kalomel und eine hochohmige Glaselektrode. Die Messgenauigkeit betrug $p_H = \pm 0,02$. Die Eichung des Gerätes erfolgte jeweils vor jeder Messung mit Standard-Acetatpufferlösung nach Michaelis (s.a.1). Alle beschriebenen Puffersysteme sind zwecks Prüfung der Richtigkeit der Berechnungen durchgemessen worden. Die Werte für den Veronal-Na-Na-Acetat-NaCl-Puffer wurden nur durch Messungen ermittelt. Die gemessenen Werte für den Phosphatpuffer und den Acetat-Puffer stimmten innerhalb der Fehlergrenze genau mit den berechneten Werten überein. Die Werte für die verschiedenen Puffersysteme sind im einzelnen aus den Tabellen 4, 5 und 6 im Anhang der Arbeit zu ersehen.

Formelzeichen zu III.

M	:	Molekulargewicht	$[g \text{ mol}^{-1}]$
v_2	:	Partielles spezifisches Volumen des Gelösten	$[cm^3 g^{-1}]$
ρ	:	Dichte des Lösungsmittels	$[g \text{ cm}^{-3}]$
R	:	Gaskonstante	$[erg \text{ grad}^{-1} \text{ mol}^{-1}]$
T	:	Absolute Temperatur	$[grad]$
D	:	Diffusionskonstante	$[cm^2 \text{ sec}^{-1}]$
D_0	:	"	für $c \rightarrow 0$
D_t	:	"	bei $t^\circ C$, unkorrigiert
D_{20}	:	"	" $20^\circ C$, auf Bezugslösungsmittel korrigiert
$D_{0,20}$	:	"	" " , auf Bezugslösungsmittel korrigiert, für $c \rightarrow 0$
s	:	Sedimentationskonstante	$[cm \text{ sec}^{-1} \text{ dyn}^{-1}]$
s_0	:	"	für $c \rightarrow 0$
s_t	:	"	bei $t^\circ C$, unkorrigiert
s_{20}	:	"	" $20^\circ C$, auf Bezugslösungs- mittel korrigiert
$s_{0,20}$	:	"	" " , auf Bezugsmittel korrigiert, für $c \rightarrow 0$
ρ_{20}^0	:	Dichte des Wassers bei $20^\circ C$	$[g \text{ cm}^{-3}]$
ρ_{20}	:	" " Lösungsmittels bei $20^\circ C$	$[g \text{ cm}^{-3}]$
ρ_t	:	" " " " t°	$[g \text{ cm}^{-3}]$
v_{20}	:	Partielles spezifisches Volumen des Gelösten bei $20^\circ C$	$[cm^3 g^{-1}]$
v_t	:	Partielles spezifisches Volumen des Gelösten bei $t^\circ C$	$[cm^3 g^{-1}]$
η_{20}^0	:	Viskosität des Bezugslösungsmittels (Wasser) bei $20^\circ C$	

η_t^0	: Viskosität des Bezugslösungsmittels (Wasser) bei $t^0\text{C}$
η_t	: " " Lösungsmittels (Puffer) bei $t^0\text{C}$
η_{20}	: " " " " " 20^0C
p	: Osmotischer Druck $[\text{dyn cm}^{-2}]$
B	: Zweiter Virialkoeffizient. Wenn nicht anders angegeben $[\text{erg cm}^3 \text{ g}^{-2}]$
f_c	: Molarer Reibungsfaktor bei der Konzentration c
f_0	: " " für $c \rightarrow 0$
f	: Molare Reibungskonstante
f^*	: Molare Reibungskonstante für eine kompakte sphärische und nichtsovatisierte Molekel
x	: Abstand vom Rotationszentrum $[\text{cm}]$
x_1	: Abstand des Dichtegradientmaximum von der Rotationsachse zur Zeit t_1 $[\text{cm}]$
x_2	: Abstand des Dichtegradientmaximum von der Rotationsachse zur Zeit t_2 $[\text{cm}]$
x_a	: Abstand des Dichtegradientmaximum vom Meniskus zur Zeit t_1 $[\text{cm}]$
x_b	: Abstand des Dichtegradientmaximum vom Meniskus zur Zeit t_2 $[\text{cm}]$
x_m	: Mittlerer Abstand zweier Dichtegradientenmaxima zwischen de n Zeiten t_1 und t_2 $[\text{cm}]$
ω	: Winkelgeschwindigkeit $[\text{sec}^{-1}]$
n_1	: Brechungsindex der Lösung
n_0	: " des Lösungsmittels
D_A	: Nach der Flächenmethode bestimmte Diffusionskonstante $[\text{cm}^2 \text{ sec}^{-1}]$
L	: Abstand Skala - Objektiv $[\text{cm}]$
b	: " " - Schichtanfang $[\text{cm}]$
a	: Strichabstand der Skala $[\text{cm}]$

n : Anzahl auf die Länge l entfallende auf den Auswert-
tisch projizierte Skalenabstände

Δv : Schrittweite der graphischen Integration [cm]

III. Sedimentations- und Diffusionsmessungen.

1.) Grundlagen.

a) Bestimmung des Molekulargewichtes.

Über die theoretischen Grundlagen der Molekulargewichtsbestimmung sei hier nur das Notwendigste gesagt, da die Theorie ausführlich in der Literatur behandelt wird (78, 79, 80, 81, 82).

Das Molekulargewicht lässt sich aus den Sedimentations- und Diffusionsmessungen nach einer von Svedberg (78) aufgestellten Formel

$$M = \frac{RT \cdot s_0}{D_0(1 - v_2 \rho)} \quad (33)$$

berechnen. Die Werte s_0 und D_0 können über die Gleichungen

$$\frac{1}{s} = \frac{1}{s_0} (1 + K_s c) \quad (34)$$

$$\text{und} \quad D = D_0 (1 + K_D c) \quad (35)$$

aus der Konzentrationsabhängigkeit der Sedimentationskonstanten s und der Diffusionskonstanten D durch Extrapolation für c gegen Null bestimmt werden (hierbei wird lineare Abhängigkeit der Grössen s und D von c vorausgesetzt, was in den meisten Fällen zutrifft; andernfalls sind Zusatzparameter notwendig).

Da in Gleichung (33) die Temperatur als Faktor eingeht, müssen s_0 und D_0 und damit sämtliche bei den entsprechenden Konzentrationen bestimmten s - und D -Werte bei einer einzigen Temperatur bestimmt werden. Das ist in der Praxis, besonders bei den Ultrazentrifugmessungen, nicht gut möglich. Die bei verschiedenen Temperaturen bestimmten Messwerte lassen sich aber durch die von Svedberg und Pedersen aufgestellte Beziehungen auf eine bestimmte Temperatur, z.B. 20°C , reduzieren (78). Und zwar gilt für

$$s_{20} = s_t \frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0} \frac{\eta_t}{\eta_t^0} \frac{1 - v_{20} s_{20}^0}{1 - v_t s_t} \quad (36)$$

und für

$$D_{20} = D_t \frac{293}{273 + t^0} \frac{\eta_t}{\eta_{20}^0} = D_t \frac{293}{273 + t^0} \frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0} \frac{\eta_t}{\eta_t^0} \quad (37)$$

s_t und D_t sind dann die unmittelbar aus den Messungen bei $t^0\text{C}$ erhaltenen unkorrigierten Messwerte. Für nach der Konzentration gegen Null extrapolierten Werte treten dann die Symbole $s_{0,20}$ und $D_{0,20}$, die bei der Berechnung des Molekulargewichtes anstelle von s_0 und D_0 in die Gleichung (33) eingehen. In den Gleichungen (36) und (37) finden wir ausser dem Glied für die Temperaturkorrektur η_t^0/η_{20}^0 noch den Quotienten von Viskosität des Lösungsmittels bei $t^0\text{C}$: Viskosität des Bezugslösungsmittels bei $t^0\text{C}$ also η_t/η_{20}^0 . Diese Korrektur auf ein Bezugslösungsmittel ist allgemein üblich. Bei Messungen an Proteinen, die meist in wässrigen Pufferlösungen gelöst sind, nimmt man als Bezugslösungsmittel meist Wasser. Wegen der Ähnlichkeit der Eigenschaften der Pufferlösungen mit Wasser kann man daher auch η_t^0/η_{20}^0 , also die Änderung der Viskosität des Lösungsmittels mit der Temperatur, an Wasser bestimmen. Deshalb wurde in der Indizierung im Zähler des Temperaturkorrekturgliedes auch kein Unterschied zwischen der Indizierung im Nenner für das Korrekturglied auf Bezugslösungsmittel gemacht. η_t wurde immer bei 20^0C bestimmt, so dass wir für den Quotienten η_t/η_t^0 auch η_{20}/η_{20}^0 schreiben können. Da die Temperaturunterschiede zwischen den einzelnen Messungen nicht sehr gross waren und der für 20^0C in der Literatur angegebene Wert für das partielle spezifische Volumen des Fibrinogens nicht allzu genau ist, wurde für v_t der gleiche Wert wie für v_{20} genommen.

b) Bestimmung des B-Wertes.

Der in der Konzentrationsfunktion für nichtideale Lösungen

$$p = \frac{RT}{M} c + Bc^2 + \dots \quad (38)$$

vorkommende 2. Virialkoeffizient lässt sich aus der von G.V. Schulz (84) und G. Meyerhoff aufgestellten Beziehung (83)

$$B = \frac{RT}{M} (K_D + K_S) \quad (39)$$

aus Diffusions- und Sedimentationsmessungen ermitteln. K_S und K_D sind die in den Gleichungen (34) und (35) vorkommenden Steigungen aus den Konzentrationsabhängigkeiten der Sedimentations- bzw. Diffusions-Konstanten.

Ein unmittelbar aus den Messgrößen D und s (bzw. D_{20} und s_{20}) sich ergebender Zusammenhang zwischen osmotischem Druck und Diffusion und Sedimentation lässt sich leicht geben. Er sei deswegen im folgenden gebracht, weil man hierdurch gut an den durch die Schwingungstheorie von Einstein (85), v. Smoluchowski (86) und Debye (87) gegebenen Zusammenhang zwischen osmotischem Druck und Lichtzerstreuung anknüpfen kann. Es lässt sich leicht zeigen (83, 84), dass

$$\frac{Df_c}{D_0 f_0} = \frac{M}{RT} \frac{\partial p}{\partial c} \quad (40)$$

ist, wobei sich $\frac{\partial p}{\partial c}$ aus Gleichung (38) durch Differentiation ergibt zu

$$\frac{dp}{dc} = \frac{RT}{M} + 2 Bc \dots \quad (41)$$

Kombiniert man (40) und (41), so erhält man

$$\frac{Df_c}{D_0 f_0} = 1 + \frac{2 BM}{RT} c + \dots \quad (42)$$

Da die Sedimentationsgeschwindigkeit dem Reibungsfaktor umgekehrt proportional ist, gilt

$$\frac{s}{s_0} = \frac{f_0}{f_c} \quad (43)$$

wodurch man aus (42) erhält

$$\frac{D_{s0}}{D_0} = 1 + \frac{2 BM}{RT} c + \dots \quad (42a)$$

Wegen

$$M = \frac{RT}{D_0(1 - v_2 S)} \quad (33)$$

erhält man

$$\frac{D}{s} (1 - v_2 S) = \frac{RT}{M} + 2Bc + \dots \quad (42c)$$

Die eben erwähnte Schwankungstheorie (85, 86, 87) verknüpft osmotischen Druck und Lichtzerstreuung durch die Gleichung:

$$\frac{K}{R_\theta} c RT = \frac{dp}{dc} \quad (44)$$

K und R_θ sind hierbei Grössen, die später im Kapitel "Lichtzerstreuung" noch näher erklärt werden. Setzt man für $\frac{dp}{dc}$ wieder die Gleichung (41), so wird aus (44)

$$\frac{K}{R_\theta} c RT = \frac{RT}{M} + 2Bc + \dots \quad (44a)$$

Man erkennt den unmittelbaren Zusammenhang zwischen (42c) und (44a) und damit zwischen Diffusion, Sedimentation und Lichtzerstreuung.

c) Bestimmung des Achsenverhältnisses.

Weicht eine Molekel von der Kugelgestalt ab, oder ist sie solvatisiert, so ist deren Reibungskonstante f grösser als die Reibungskonstante f^* einer kugeligen, nicht solvatisierten Molekel. Aus der Abweichung des Reibungsverhältnisses f/f^* von eins lassen sich deshalb Rückschlüsse entweder auf die Solvatation oder auf die Form der Molekel ziehen.

Schliesst man unter der Annahme, dass keine Solvation stattgefunden hat, auf die Form (oder besser gesagt; Auf die Abweichung von der Kugelgestalt), so muss eine hypothetische Annahme über das Modell (Ellipsoid, Zylinder usw.) gemacht werden.

Im Falle des Fibrinogens kann auf Grund verschiedener Messungen mehrerer Autoren (10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 26, 33, 37, 40) die Annahme gemacht werden, dass es sich um ein langgestrecktes Molekül handelt. Mit einiger Berechtigung lassen sich daher Abweichungen des Reibungsverhältnisses vom Werte eins zum grossen Teil auf die langgestreckte Form des Fibrinogenmoleküls zurückführen. Damit ist natürlich nicht gesagt, dass ein gewisser Anteil dieser Abweichung nicht auch von evtl. Solvation herrühren könnte.

Für die Berechnung des Reibungsverhältnisses aus Sedimentations- und Diffusions-Messungen geben Svedberg und Pedersen 3 verschiedene Beziehungen an (78). In dieser Arbeit wurde das Reibungsverhältnis nach der Gleichung

$$f/f^* = 10^{-8} \left(\frac{1 - v_2 \rho}{D_{0,20}^2 s_{0,20} v_2} \right)^{1/3} \quad (45)$$

bestimmt.

Herzog, Illig und Kudar (88), sowie Perrin (89) haben für gestreckte und abgeplattete Ellipsoide Beziehungen aufgestellt, die es gestatten, aus der Veränderung von f/f^* mit der Form (Länge, Dicke) das Achsenverhältnis der Molekeln zu bestimmen. Für gestreckte Ellipsoide geben sie die Beziehung an

$$f/f^* = \frac{\sqrt{1 - q^2}}{q^{2/3} \ln \frac{1 + \sqrt{1 - q^2}}{q}} \quad (46)$$

wobei

$$q = \frac{b}{a};$$

b = äquatorialer Radius

a = halbe Länge der Rotationsachse

Svedberg und Pedersen geben für numerische Werte von f/f die einzelnen q -Werte tabelliert an (siehe 78, Seite 39).

d) Über die Auswertung von Sedimentations- und Diffusions-Messungen.

Nach Svedberg und Katsurai (90) ist die Sedimentationskonstante definiert als die Sedimentationsgeschwindigkeit im Einheitsfeld.

Es gilt die Beziehung:

$$s_t = \frac{dx}{dt} \frac{1}{x\omega^2} \quad (47)$$

Integriert man (47) in den Grenzen zwischen t_2 und t_1 und x_2 und x_1 , so gelangt man zu Gleichung (47a)

$$s_t = \frac{\ln \frac{x_2}{x_1}}{(t_2 - t_1)\omega^2} \quad (47a)$$

Die Bedeutung der Grössen x_1 und x_2 , sowie der im folgenden vorkommenden Grössen x_0 , x_m , x_a und x_b sind aus Abb. 1 zu ersehen.

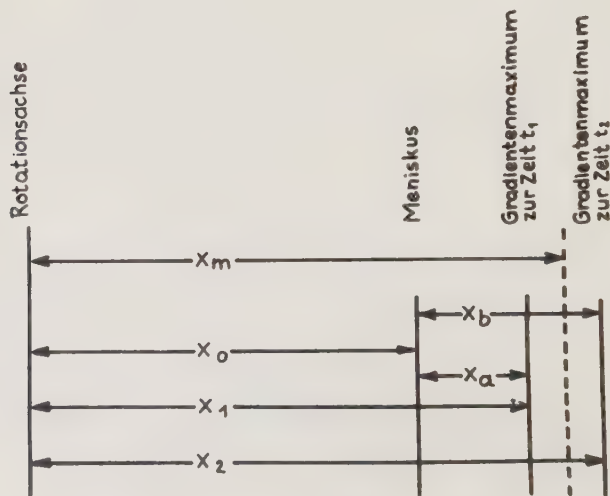


Bild 1. Schematische Darstellung und Definition der

Misst man die Gradientenmaxima $x_1, x_2, x_3, \dots$ in genügend kurzen Zeitabständen, so dass die Differenz $x_2 - x_1$ bzw. der Bruch $\frac{x_2}{x_1}$ relativ klein ist (nach Svedberg und Pedersen soll $\frac{x_2}{x_1} < 1,4$ sein), so kann anstelle von (47) bzw. (47a) auch treten

$$s_t = \frac{\Delta x}{\Delta t} \frac{1}{x_m \omega^2} \quad (48)$$

Werden zwei Dichtegradientenmaxima x_1 und x_2 bei den Zeiten t_1 und t_2 gemessen, so ist $\Delta x = x_2 - x_1$ und $\Delta t = t_2 - t_1$.

Wie sich leicht aus Abbildung 1 zeigen lässt, ist

$x_m = \frac{x_2 + x_1}{2}$, so dass wir aus (43) erhalten

$$s_t = \frac{2 (x_2 - x_1)}{(x_2 + x_1) \omega^2 (t_2 - t_1)} \quad (48a)$$

In der Praxis wird nicht x_1 und x_2 gemessen, sondern x_a und x_b . Da x_0 für jede Zelle bekannt ist, lassen sich x_1 und x_2 aus x_0, x_a und x_b berechnen: $x_1 = x_0 + x_a$ und $x_2 = x_0 + x_b$. Dann wird:

$$x_m = \frac{(x_0 + x_a) + (x_0 + x_b)}{2} = \frac{2x_0 + x_a + x_b}{2} = x_0 + \frac{x_a + x_b}{2}$$

Ferner ist $x_2 - x_1 = x_b - x_a$. Aus (48a) wird daher

$$s_t = \frac{(x_b - x_a)}{\left(x_0 + \frac{x_a + x_b}{2}\right) \omega^2 (t_2 - t_1)} \quad (48b)$$

x_a und x_b sind nicht unmittelbar in cm aus den Maxima auf der photographischen Platte auszumessen. Es werden vielmehr die relativen Entfernungen x'_a und x'_b gemessen, die dann mit

einem Faktor für die Vergrößerung der Optik an der Ultrazentrifuge und des Auswertegerätes F_v multipliziert werden müssen: $x_a = x'_a F_v$ und $x_b = x'_b F_v$.

In der Praxis kann die Versuchsdauer meistens so gehalten werden, dass der Quotient aus dem Abstand des Gradientenmaximums der letzten Messung und dem Abstand des Meniskus von der Rotationsachse x_0 (Beginn der Messung) immer kleiner als 1,4 ist. Man kann daher für die Auswertung für jede zwischen Beginn und Schluss des Versuches gemachte Messung, bei der für eine Zeit t ein x gemessen wird, x_0 (bei der Zeit $t_0 = 0$ Min.) als Bezugswert nehmen. Für fortlaufende Messungen innerhalb des Versuches mit der Versuchsnummer v kann daher (aus (48a) für $x_2 = x_v$, $x_1 = x_0$, $t_2 = t_v$, $t_1 = t_0 = 0$) für die Auswertung die Gleichung

$$s = \frac{2 (x_v - x_0)}{(x_v + x_0) \omega^2 t_v} \quad (48c)$$

in Anwendung gebracht werden. Selbstverständlich ist wieder $x_v = x'_v \cdot F_v$. Formt man Gleichung (48c) um, so erhält man

$$s_t \omega^2 t_v = 2 \frac{(x_v - x_0)}{(x_v + x_0)} \quad (48d)$$

Im $s_t \omega^2 t_v - t_v$ - Diagramm (t_v in sec; wenn in Minuten, dann muss t_v noch mit 60 multipliziert werden) erhält man $s_t \omega^2$ als Steigung. Division durch ω^2 ($\omega = \text{U/Min.} \cdot \frac{2\pi}{60}$) ergibt dann den s -Wert für eine bestimmte Konzentration. Die aus einer Konzentrationsreihe ermittelten s -Werte müssen dann noch auf $t = 20^\circ\text{C}$ und das Bezugslösungsmittel korrigiert werden (Gleichung (36)), ehe man durch Extrapolation für $c \rightarrow 0$ im $s_t - c$ - Diagramm s_0 bestimmt.

Bei der Messung der Diffusionskonstanten wird der Verlauf der Diffusion durch Beobachtung der Änderung des Dichtegradienten mit der Zeit verfolgt. Durch die beim Versuch angewandte Lamm'sche Skalenmethode (91, 92, 93, 94, 95, 96)

erhält man, durch den in der Diffusionszelle vorhandenen Dichtegradienten $\frac{dn}{dx}$, eine Verzerrung einer Skala. Trägt man die Skalenabweichung der verzerrten Skala von der unverzerrten Skala gegen die verzerrten Linien auf, so erhält man eine Kurve, die nach Wiener (97) die Änderung des Dichtegradienten $\frac{dn}{dx}$ mit der Zeit t und dem Diffusionsweg, sowie der Diffusionskonstanten D verknüpft und durch die Gleichung

$$\frac{dn}{dx} = \frac{n_1 - n_0}{2\sqrt{\pi Dt}} e^{-x^2/4Dt} \quad (49)$$

dargestellt werden kann.

Definiert man die Abszissenwerte des $\frac{dn}{dx} - x$ - Diagramms so, dass beim Maximum des $\frac{dn}{dx}$ - Wertes x gleich 0 wird, so kann man aus $(\frac{dn}{dx})_{\max}$ aus obiger Gleichung (49) D_A berechnen. Aus (49) wird

$$(\frac{dn}{dx})_{\max} = \frac{n_1 - n_0}{2\sqrt{\pi D_A t}} \quad (50)$$

bzw.

$$D_A = \frac{(n_1 - n_0)^2}{4\pi t \cdot (\frac{dn}{dx})_{\max}^2} \quad (50a)$$

Hierbei ist $(n_1 - n_0) = F'$ gleich dem Flächeninhalt der Diffusionskurve.

In der Praxis erhält man nun nicht unmittelbar F' , sondern vielmehr eine Fläche F , die mit einem Vergrößerungsfaktor G_V^2 (deswegen Quadrat, weil sowohl Ordinate wie Abszisse, aus dessen Werten F berechnet wird, G_V als Faktor enthalten) behaftet ist. Ebenso ist dann $(\frac{dn}{dx})_{\max}$ mit dem gleichen Faktor G_V behaftet. Es wird also: $F = F' G_V^2 = (n_1 - n_0) G_V^2$ und $(\frac{dn}{dx})_{\max} G_V = Z_{\max}$. Als Ordinate erhalten wir $Z = G_V \frac{dn}{dx}$ und als Abszisse $v = G_V x$.

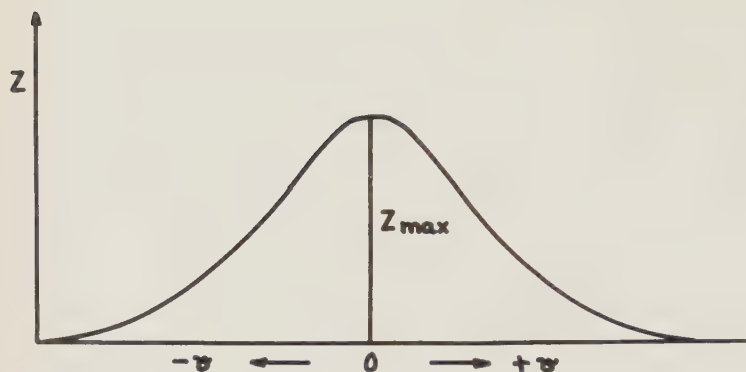


Bild 2. Abhängigkeit des Dichtegradienten von der Diffusionsrichtung bei der Diffusion.

Aus Gleichung (50a) wird dann bei Berücksichtigung der neuen Definitionen

$$D_A t = \frac{F^2}{4 \pi Z_{\max}^2} \quad (50b)$$

Aus obigem $Z - v$ - Diagramm lässt sich F wie folgt berechnen:

$$F = \int_{v=-\infty}^{v=\infty} Z dv = G_V^2 \int_{n_0}^{n_1} \frac{dn}{dx} dx = (n_1 - n_0) \cdot G_V^2 \quad (51)$$

Wird graphisch mit der Schrittbreite Δv mit $\vee$ Schritten integriert, so ergibt sich für

$$F = G_V \Delta v \sum_0^{\vee} \left(\frac{dn}{dx} \right)_{\vee} \quad (52)$$

In (45b) eingesetzt

$$D_A t = \frac{G_V^4 \left[\Delta v \sum_0^v \left(\frac{dn}{dx} \right)_v \right]^2}{4 G_V^2 \left(\frac{dn}{dx} \right)_{\max}^2} = \frac{G_V^2 \left[\Delta v \sum_0^v \left(\frac{dn}{dx} \right)_v \right]^2}{4 \pi \left(\frac{dn}{dx} \right)_{\max}^2} \quad (53)$$

G_V setzt sich nun noch zusammen aus der photographischen Vergrößerung der verwendeten Optik G' und der Gesamtvergrößerung der Skala G'' (Vergrößerung der Messoptik und der Optik des Auswertegerätes). Es lässt sich leicht zeigen, dass bei der in unserem Institut verwendeten Optiken für $G' = \frac{L-b}{L}$ und für $G'' = \frac{an}{1}$ gesetzt werden kann. Man erhält so aus Gleichung (53), wenn für $G_V = G' G'' = \left(\frac{L-b}{L} \right) \left(\frac{an}{1} \right)$ gesetzt wird

$$D_A t = \left(\frac{L-b}{L} \right)^2 \frac{1}{4 \pi} \left(\frac{an}{1} \right)^2 \frac{\left[\Delta v \sum_0^v \left(\frac{dn}{dx} \right)_v \right]^2}{\left(\frac{dn}{dx} \right)_{\max}^2} \quad (54a)$$

Die Zeit t wird in sec angegeben.

Für die Bestimmung von D_A sind etwa 20 Kurven auszuwerten und die gewonnenen $D_A t$ - Werte (aus der rechten Seite der Gleichung (54a) gegen t aufzutragen. D_A erhält man dann als Steigung der resultierenden Geraden. D_A ist dann noch nach Gleichung (37) auf 20°C und Bezugslösungsmittel zu korrigieren. Aus einer Konzentrationsreihe (etwa 5 verschiedene Konzentrationen) erhält man dann durch Extrapolation im $D_A - c$ - Diagramm $D_{0,20}$.

2.) Für die Messungen verwendete Apparaturen.

a) Die Ultrazentrifuge.

Die Messungen der Sedimentationskonstanten wurden mit einer Hochgeschwindigkeits-Ultrazentrifuge mit Luftturbinenantrieb (s.a.78) der Firma Phywe (Göttingen) durchgeführt. Die Tourenzahl, die automatisch gesteuert wird, betrug 50 000 U/Min.;

daher $\omega^2 = 2,74 \cdot 10^7$. Die Zentrifuge ist mit einer Optik nach Philpot-Svensson (98, 99) ausgerüstet. Für eine Messung wurden je 8 Aufnahmen in Abständen von 10 Minuten gemacht. Der Vergrößerungsfaktor der Zentrifugenoptik und des Auswertegerätes betrug $F_y = 0,0403$. Die Temperatur wurde durch einen an die Kühlschlangen des Zentrifugenmantels angeschlossenen Kältethermostat und durch Durchspülen des Rotorraumes mit gereinigtem Wasserstoff auf $\pm 0,2^\circ\text{C}$ konstant und möglichst in der Nähe von 20°C gehalten.

b) Die Diffusionszelle.

Für die Diffusionsmessungen kam eine von Meyerhoff verbesserte Diffusionszelle nach Claesson (100) zur Anwendung. Die Zelle ist ganz aus V_2A gearbeitet. Als Dichtungsmittel wurde Vaseline genommen, weil die Zelle wegen der Denaturierungsgefahr der Lösung nach jeder Messung gereinigt werden musste und die Verwendung von Quecksilber als Dichtungsmittel deswegen unzumutbar gewesen wäre. Lediglich für zwei Messungen wurde auch noch eine Diffusionszelle nach Meyerhoff (101) verwendet, mit welcher die gleichen Ergebnisse wie mit der Claessonzelle erhalten wurden. Wie bereits unter III.) 1.) c) erwähnt, ist die Versuchsanordnung mit einer Lamm'schen Skalenoptik ausgerüstet. Die Versuchsdauer erstreckte sich über etwa 24 Stunden, innerhalb welcher, in Abständen von $\frac{1}{2}$ - 1 Stunde, etwa zwanzig Aufnahmen von der verzerrten Skala gemacht wurden. Die Vergleichsskalen wurden an der jeweils vorher gemessenen Lösung, nach gründlichem Durchmischen der Puffer/Lösung-Schichten, unmittelbar nach Beendigung des Versuches aufgenommen. Der Abstand Skala-Schichtanfang b muss dem Zeitverlauf der Diffusion angepasst werden, um eine möglichst gut sichtbare Verzerrung der Skala auf der photographischen Platte zu erhalten. b wird bei konstant gehaltenem L (Abstand Skala-Objektiv; d.h. bei Verschiebung der Skala wird das Objektiv um den gleichen Betrag wie die Skala verschoben) von Zeit zu Zeit geändert. Bei der verwendeten Versuchsanordnung betrug $L = 129,6$ cm. In folgender Tabelle 7 sind für ver-

schiedene b-Werte (in cm) die mit $\frac{1}{\pi 240}$ ($= 1,327 \cdot 10^{-3}$; Faktor 60 im Nenner kommt herein, weil t in Minuten angegeben wird) multiplizierten $(\frac{L-b}{L})^2$ - Werte zu entnehmen.

Tabelle 7

b	$(\frac{L-b}{b})^2$	$(\frac{L-b}{b})^2 \frac{1}{\pi 240}$
4,4	0,9332 10^2	1,238
6,4	0,9044 "	1,200
8,4	0,8742 "	1,160
10,4	0,8464 "	1,123
12,4	0,8172 "	1,084
13,4	0,8039 "	1,067
14,4	0,7903 "	1,047
16,4	0,7621 "	1,011
18,4	0,7362 "	0,977
20,4	0,7106 "	0,943
22,4	0,6839 "	0,908
24,4	0,6593 "	0,875
26,4	0,6336 "	0,841

Der Strichabstand der Skala ist $a = 0,02$ cm.

c) Die Auswertegeräte für Sedimentation und Diffusion.

Die auf eine photographische Platte aufgenommenen Dichtegradientenkurven wurden mit Hilfe eines Vergrößerungsgerätes auf einen Tisch projiziert und auf Karopapier so genau wie möglich nachgezeichnet. Durch graphische Mittelung wurde von jeder Kurve das Maximum gezeichnet, dessen Abstand vom Meniskus (dieser wird in Form einer Linie bei der Vergrößerung sichtbar) in cm gemessen wird und mittels des Faktors F_V in das wirkliche Mass umgerechnet.

Die durch die Lamm'sche Skalenmethode gewonnenen Aufnahmen der verzerrten Skala wurden mit Hilfe eines im Institut besonders von Herrn R. Klein und F. Baumgartner entwickelten Auswertegerätes ausgewertet. Die verzerrte Skala wird zusammen mit der Vergleichsskala auf einen Tisch vergrößert projiziert. Durch einen Mechanismus kann die verzerrte Skala in der x - Richtung (v - Richtung) abgetastet werden. Eine Veränderung der verzerrten Skala gegenüber der Vergleichsskala kann, wiederum durch einen Mechanismus, in der senkrecht zur x - Richtung stehenden z - Richtung eingestellt werden. Bei für jeden Skalenstrich in diesen beiden Richtungen eingestellter Lage des Auswertegerätes lässt sich durch Herabdrücken einer Nadel ein Punkt auf dem Auswertepapier festhalten. Ist so die gesamte Skala "abgefahren", so hat man die fertige Diffusionskurve in der Hand, die dann, wie unter III.) 1.) d) beschrieben, ausgewertet werden kann.

3.) Messung der Viskosität der Pufferlösungen.

Für die Korrektur der Diffusions- und Sedimentationskonstanten auf Bezugslösungsmittel wurden die Viskositäten der Pufferlösungen bei 20°C gemessen. Für die Messungen kam ein Oswald Viskosimeter zur Verwendung, welches nach Vorschlag von Schulz und Cantow (102) den für Wasser geforderten Kapillarendurchmesser von 0,4 mm hatte (was für die hier durchgeführten Messungen jedoch keine Bedeutung hat). Sowohl die Pufferlösungen, wie auch das bidestillierte Wasser (Bezugslösungsmittel) wurden vor der Messung durch eine Glasfritte G 4 gefiltert. Die Grobregulierung der Temperatur besorgte ein Kontaktthermometer, die Feinregulierung erfolgte durch Zugabe von kleinen Eisstückchen oder durch Einschalten eines zweiten Tauchsieders. Es wurde hierdurch eine Temperaturkonstanz von $\pm 0,02^\circ\text{C}$ erreicht. Folgende $\frac{\eta_{20}}{\eta_0}$ - Werte wurden erhalten:

Tabelle 8

p_H	Zeit sec	$\frac{\eta_{20}^a}{\eta_{20}^o}$
Wasser	71,00 $\pm$ 0,05	
5,57	76,75 $\pm$ 0,07	1,0811
6,66	75,54 $\pm$ 0,06	1,0639
7,66	74,13 $\pm$ 0,06	1,0441

Die $\frac{\eta_t^o}{\eta_{20}^o}$ - Werte sind aus der graphischen Darstellung im Anhang⁴⁾ entnommen worden.

4.) Messung der Dichte der Pufferlösungen.

Die Bestimmung der Dichten der Pufferlösungen wurde mit einem mit Thermometer als Stopfen ausgerüsteten Pyknometer durchgeführt. Die Temperatur (20°C) wurde mit Hilfe des unter III.) 3.) beschriebenen Thermostaten eingestellt. Die gemessenen Dichten sind in Tabelle 9 aufgeführt.

Tabelle 9

p_H	ρ_{20}
5,57	1,0381
6,66	1,0271
7,66	1,0223

5.) Messung der Sedimentations- und Diffusionskonstanten.

a) Abhängigkeit der Sedimentationskonstanten von der Konzentration und dem p_H -Wert.

Die Messung der Konzentrationsabhängigkeit der Sedimentationskonstanten erfolgte bei drei verschiedenen p_H -Werten und ei-

ner Ionenstärke, und zwar:

$$\begin{array}{llll} \alpha) & p_H & 5,57 & \text{und Ionenstärke } T/2 = 0,5 \\ \beta) & p_H & 6,66 & " " T/2 = 0,5 \\ \gamma) & p_H & 7,66 & " " T/2 = 0,5 \end{array}$$

Für die Einstellung des p_H -Wertes und der Ionenstärke diene der Kaliumphosphatpuffer.

Wie die Bilder 3a, b, c und d zeigen, sedimentieren die Fibrinogenmoleküle innerhalb der Versuchszeit völlig einheitlich und somit wird auch nur eine Sedimentationskonstante gefunden. Dieser Befund bestätigt das bereits in der vorangegangenen Diplomarbeit gefundene Ergebnis, dass das dargestellte Fibrinogen-Präparat fast hundertprozentig rein ist und auf Grund von elektrophoretischen Messungen aus Molekülen einheitlicher Ladung besteht. Dass die Moleküle einheitlicher Ladung sind, sagt noch nicht aus, ob sie auch einheitliche Teilchengrösse haben. Die Sedimentation macht aber Aussagen über die Teilchengrösse. Somit unterstützen sich die elektrophoretischen und die Sedimentations-Messungen gegenseitig und bestätigen, dass Fibrinogen aus Molekülen einheitlicher Grösse besteht.

Da sich bei der Auftragung der s_{20} -Werte gegen die Konzentration, entsprechend der Gleichung (34), eine Gerade ergibt, konnten die Extrapolationen für $c \rightarrow 0$ zur Ermittlung der $s_{0,20}$ -Werte und die Bestimmung der K_s -Werte mit der Methode der kleinsten Fehlerquadrate erfolgen. Es gilt:

$$a = \frac{1}{s_{0,20}} = \frac{\sum xy \sum x - \sum y \sum x^2}{(\sum x)^2 - n \sum x^2} \quad (55)$$

$$b = \frac{1}{s_{0,20}} K_s = \frac{\sum x \sum y - n \sum xy}{(\sum x)^2 - n \sum x^2} \quad (56)$$

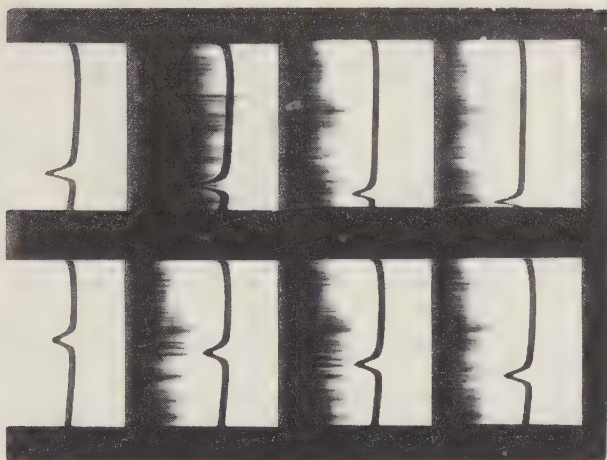


Bild 3a. Sedimentationsdiagramme aus Vers.-Nr.
S - 403, $c = 4,98 \text{ g/L}$. Aufnahmezeiten
(von rechts nach links) nach 20, 30, 45,
60, 75, 90, 105 und 120 Minuten.

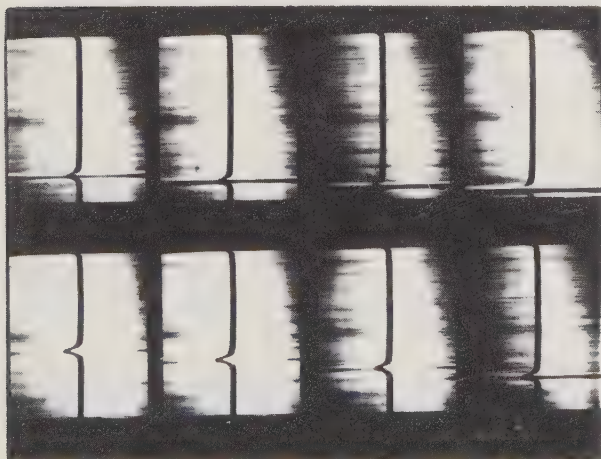


Bild 3b. Sedimentationsdiagramme aus Vers.-Nr.
S - 410, $c = 12,30 \text{ g/L}$. Aufnahmezeiten
(von rechts nach links) nach 21, 30, 40,
50, 60, 75, 90 und 105 Minuten.

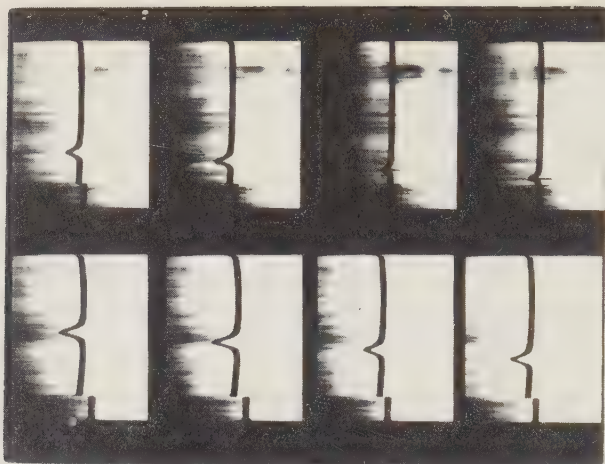


Bild 3c. Sedimentationsdiagramme aus Vers.-Nr.
S - 412, $c = 7,03 \text{ g/L}$. Aufnahmezeiten
(von rechts nach links) nach 20, 30, 40
50, 60, 70, 79 und 90 Minuten.

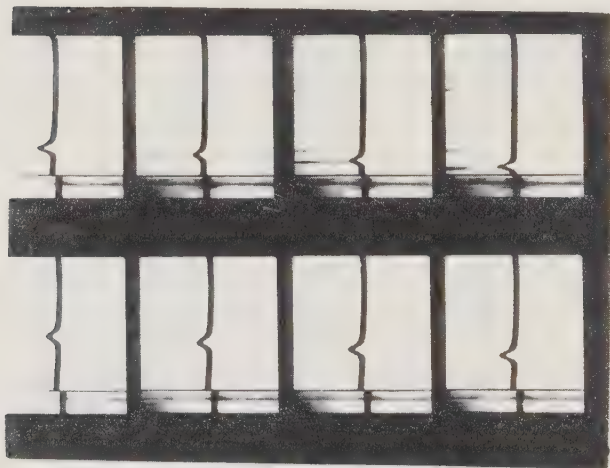


Bild 3d. Sedimentationsdiagramme aus Vers.-Nr.
S - 432, $c = 4,46 \text{ g/L}$. Aufnahmezeiten
(von rechts nach links) nach 20, 28, 36,
44, 52, 60, 68 und 76 Minuten.

In diesen Beziehungen ist

$$\begin{aligned}\sum x &= \sum c & \sum y &= \sum \frac{1}{s_{20}} \\ \sum x^2 &= \sum c^2 & \sum xy &= \sum \frac{1}{s_{20}} c \\ (\sum x)^2 &= (\sum c)^2 & n &= \text{Anzahl der Messpunkte}\end{aligned}$$

$\alpha) p_H = 5,57, T/2 = 0,5$

$$\frac{\eta_{20}}{\eta_{20}^0} = 1,0811$$

$$\frac{1 - v_{20} S_{20}^0}{1 - v_{20} S_{20}} = 1,1080$$

Tabelle 10

Vers.Nr.	c [g/L]	s _t 10 ¹³	s _t $\frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0}$ 10 ¹³	s _t $\frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0} \frac{\eta_{20}}{\eta_{20}^0}$ 10 ¹³	s ₂₀ 10 ¹³
S 446	1,50	6,59	6,59	7,12	7,89
S 445	2,99	6,56	6,56	7,09	7,85
S 440	5,72	6,17	6,17	6,67	7,39
S 439	9,53	5,88	5,88	6,36	7,05
S 444	14,95	5,77	5,77	6,23	6,90

$$s_{0,20} = 7,99 \cdot 10^{-13}$$

=====

$$K_s = 0,01155 \left[\frac{L}{g} \right] = 11,55 \left[\frac{cm^3}{g} \right]$$

=====

$$\lambda_L) p_H = 6,66, T/2 = 0,5$$

$$\frac{\eta_{20}}{\eta_{20}^0} = 1,0639$$

$$\frac{1 - v_{20}^0 \rho_{20}^0}{1 - v_{20} \rho_{20}} = 1,0757$$

Tabelle 11

Vers.Nr.	c	s _t	s _t $\frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0}$	s _t $\frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0} \frac{\eta_{20}}{\eta_{20}^0}$	s ₂₀
	[g/L]	10 ¹³	10 ¹³	10 ¹³	10 ¹³
S 408	0,53	7,55	7,25	7,71	8,29
S 406	1,06	7,44	7,14	7,60	8,18
S 404	1,99	7,50	7,20	7,66	8,40
S 405	2,98	7,08	6,79	7,22	7,77
S 407	3,77	7,12	6,83	7,27	7,82
S 403	4,98	6,96	6,68	7,11	7,65
S 412	7,03	7,05	6,77	7,20	7,75
S 410	12,30	6,47	6,23	6,63	7,13
S 411	17,57	5,94	5,71	6,07	6,53

$$s_{0,20} = 8,36 \cdot 10^{-13}$$

=====

$$K_s = 0,01527 \left[\frac{L}{g} \right] = 15,27 \left[\frac{cm^3}{g} \right]$$

=====

$$\tau) p_H = 7,66, T/2 = 0,5$$

$$\frac{\eta_{20}}{\eta_{20}^0} = 1,0441$$

$$\frac{1 - v_{20} \rho_{20}^0}{1 - v_{20} \rho_{20}} = 1,0624$$

Tabelle 12

Vers.Nr.	c [g/L]	s _t 10 ¹³	s _t $\frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0}$ 10 ¹³	s _t $\frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0} \frac{\eta_{20}}{\eta_{20}^0}$ 10 ¹³	s ₂₀ 10 ¹³
S 436	1,02	7,21	7,09	7,53	8,00
S 435	2,04	6,96	6,84	7,27	7,72
S 433	3,23	7,04	6,92	7,35	7,81
S 432	4,46	6,83	6,71	7,13	7,57
S 434	9,68	6,15	6,04	6,42	6,82
S 431	16,14	5,49	5,39	5,73	6,09

$$s_0 = 8,20 \cdot 10^{-13}$$

$$K_s = 0,02114 \left[\frac{L}{g} \right] = 21,14 \left[\frac{cm^3}{g} \right]$$

c) Graphische Darstellung der Ergebnisse.

Trägt man die s₂₀-Werte in Abhängigkeit von der Konzentration für die verschiedenen p_H-Werte graphisch auf, so ergibt sich folgendes Bild:

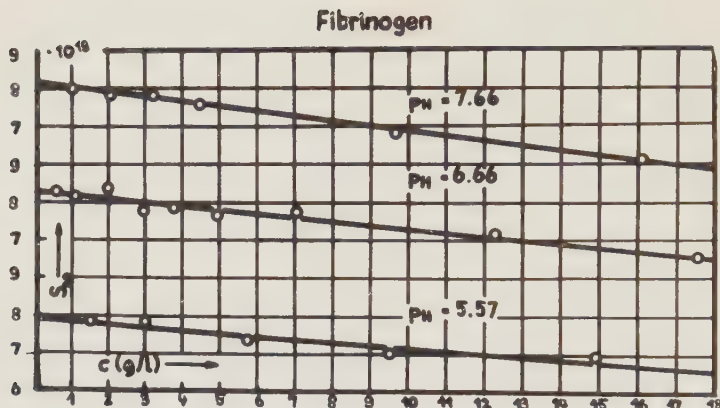


Bild 4. Konzentrationsabhängigkeit der Sedimentationskonstanten bei 3 verschiedenen p_H -Werten. Die Ordinate ist für die verschiedenen p_H -Werte zur besseren Übersicht verschoben.

b) Abhängigkeit der Diffusionskonstanten von der Konzentration und dem p_H -Wert.

Auch die Diffusionsmessungen sind bei 3 verschiedenen p_H -Werten, den gleichen wie bei den Sedimentationsmessungen, durchgeführt worden. Entsprechend dem unter 5.)a) gesagten lassen sich die $D_{0,20}$ - und die K_D -Werte wieder mit Hilfe der Methode der kleinsten Fehlerquadrate bestimmen. In Gleichung (55) ist dann $a = D_{0,20}$ und in Gleichung (56) ist $b = D_{0,20} K_D$. Dann ist

$$\begin{aligned}\sum x &= \sum c \\ \sum x^2 &= \sum c^2 \\ (\sum x)^2 &= (\sum c)^2\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\sum y &= \sum D_{20} \\ \sum xy &= \sum D_{20} c\end{aligned}$$

n = Anzahl der Messpunkte

a) $p_H = 5,57, T/2 = 0,5$

In den folgenden Tabellen unter α), β) und γ) (Tabellen 13, 14, 15) sind die $\frac{\eta_{20}^0}{\eta_{20}^0}$ - Werte gleich denen unter 5.) a) α , β , γ .

Tabelle 13

Vers.Nr.	c [g/L]	D_t 10^7	$D_t \frac{293}{273 + t} \frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0}$ 10^7	D_{20} 10^7
D 396	2,59	1,49	1,50	1,62
D 395	4,49	1,88	1,89	2,04
D 397	5,83	1,52	1,53	1,65
D 390	9,53	1,58	1,59	1,72
D 392	14,95	1,58	1,59	1,72

$$D_{0,20} = 1,82 \cdot 10^{-7}$$

=====

$$K_D = -0,00334 \text{ [L/g]} = -3,34 \text{ [cm}^3\text{/g]}$$

=====

$$\gamma) p_H = 6,66, T/2 = 0,5$$

Tabelle 14

Vers.Nr.	c	D _t	D _t $\frac{293}{273 + t} \frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0}$	D ₂₀
	[g/L]	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
D 363	1,29	1,64	1,64	1,74
D 362	1,89	1,48	1,49	1,59
D 357	1,99	1,72	1,73	1,84
D 360	3,77	1,80	1,82	1,94
D 356	4,98	1,73	1,72	1,83
D 364	12,30	1,33	1,32	1,40

$$D_{0,20} = +1,86 \cdot 10^{-7}$$

=====

$$K_D = -0,01638 \text{ [L/g]} = -16,38 \text{ [cm}^3\text{/g]}$$

=====

$$\gamma) p_H = 7,66, T/2 = 0,5$$

Tabelle 15

Vers.Nr.	c	D _t	D _t $\frac{293}{273 + t} \frac{\eta_t^0}{\eta_{20}^0}$	D ₂₀
	[g/L]	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
D 389	1,63	1,93	1,94	2,03
D 387	3,26	2,09	2,09	2,18
D 386	4,46	1,74	1,69	1,75
D 385	9,68	1,64	1,60	1,66
D 384	16,14	1,19	1,20	1,25

$$D_{0,20} = 2,21 \cdot 10^{-7}$$

=====

$$K_D = -0,02563 \text{ [L/g]} = -25,63 \text{ [cm}^3\text{/g]}$$

=====

5.) Graphische Darstellung der Ergebnisse.

In Bild 5 sind die Ergebnisse aus 5.) b) a) b) c) im $D_{20} - c$ - Diagramm graphisch dargestellt.

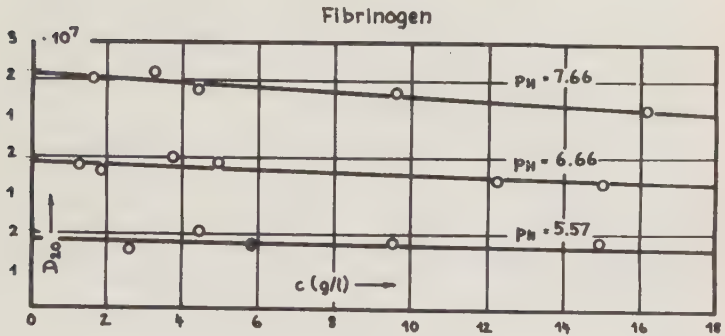


Bild 5. Konzentrationsabhängigkeit der Diffusionskonstanten bei 3 verschiedenen p_H -Werten. Die Ordinate ist für die verschiedenen p_H -Werte zur besseren Übersicht verschoben

6.) Auswertung der Ergebnisse.

a) Das Molekulargewicht.

Bei zugrunde legen eines aus der Literatur (19) entnommenen Wertes für das partielle spezifische Volumen von $v_2 = 0,71$ und den in III.) 4.) bestimmten Dichten für die Pufferlösungen, errechnen sich über Gleichung (33) folgende Molekulargewichte:

Tabelle 16

p_H	$D_{0,20}$ 10^7	$S_{0,20}$ 10^{13}	M
5,57	$1,82 \pm 0,12$ ($\pm 6,6$ %)	$7,99 \pm 0,10$ ($\pm 1,3$ %)	367 000 ($\pm 7,9$ %)
6,66	$1,86 \pm 0,14$ ($\pm 7,5$ %)	$8,36 \pm 0,12$ ($\pm 1,4$ %)	376 000 ($\pm 8,9$ %)
7,66	$2,21 \pm 0,08$ ($\pm 3,6$ %)	$8,20 \pm 0,07$ ($\pm 0,9$ %)	310 000 ($\pm 4,5$ %)

Die angegebenen Fehler von Diffusions- und Sedimentationskonstanten sind aus den Abweichungen der Messpunkte von der nach der mittleren Fehlerquadratmethode bestimmten Geraden ermittelt. Rechnet man, dass das partielle spezifische Volumen sowie die Dichte auch noch mit Fehlern von je $\pm 1 - 2$ % behaftet sind, so kann man beim Molekulargewicht mit einem maximalen Fehler von etwa ± 10 % rechnen. Nehmen wir an, dass das Molekulargewicht 376 000 beim p_H 6,66 um etwa 10 % zu hoch liegt, und das beim p_H 7,66 gemessene Molekulargewicht 310 000 um 10 % zu niedrig ist, so kann man für beide p_H -Werte einen Wert von 340 000 annehmen. Man kann daher aus den gefundenen Molekulargewichten wegen der Fehlergrenze nicht auf eine p_H -Abhängigkeit schließen.

b) Die K_s - und K_D -Konstanten.

Wie aus Bild 6 hervorgeht, zeigen sowohl K_s wie auch K_D deutliche Abhängigkeit vom p_H -Wert. Durch die Messpunkte lassen sich angenäherte Geraden zeichnen.

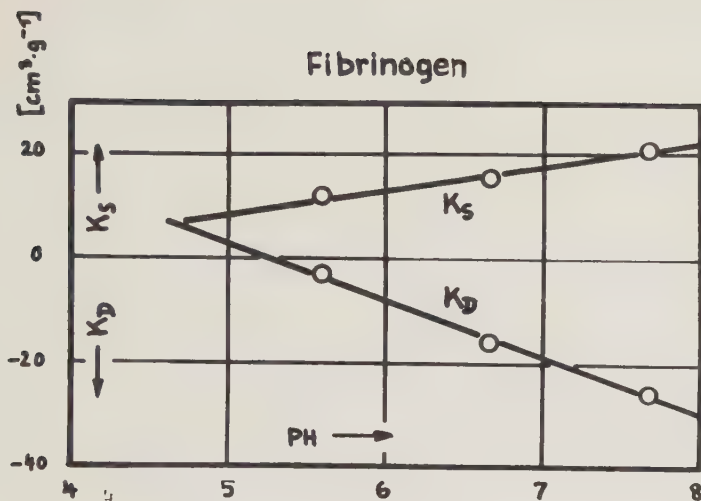


Bild 6. Abhängigkeit der K_S - und K_D -Werte vom p_H -Wert.

Auf der Ordinate sind positiv aufgetragen die K_S -Werte und negativ die K_D -Werte. Sie werden mit wachsendem p_H positiver (K_S) bzw. negativer (K_D). Bei einem p_H -Wert von etwa 5,3 wird $K_D = 0$. Führt man Diffusionsmessungen an Fibrinogen daher bei diesem p_H -Wert (der allerdings sehr nahe beim isoelektrischen Punkt liegt) durch, so kann man sich mit einer einzigen Messung bei beliebiger Konzentration begnügen. Der K_S -Wert wird zwar auch bei einem bestimmten p_H -Wert gleich Null, jedoch werden die Messungen unterhalb des isoelektrischen Punktes wegen geringerer Löslichkeit schwieriger.

c) Der B-Wert.

Um einen Vergleich der B-Werte mit evtl. Literaturwerten zu ermöglichen, sind sie in Tabelle 15 in drei verschiedenen Dimensionen angegeben. (Die für die verschiedenen Dimensionen verwendeten Konstanten für den $\frac{RT}{2}$ - Wert in Gleichung (39) sind:

$1,219 \cdot 10^{10} \left[\frac{\text{erg mol}^{-1}}{1 \text{ atm mol}^{-1}} \right]$, $2,912 \cdot 10^2 \left[\text{cal mol}^{-1} \right]$; $12,028$

Tabelle 17

B

p_H	$\left[\frac{\text{erg cm}^3}{g^2} \right]$ 10^{-5}	$\left[\frac{\text{cal cm}^3}{g^2} \right]$ 10^3	$\left[\frac{\text{atm l}^2}{g^2} \right]$ 10^7
5,57	2,73	+6,52	2,69
6,66	-0,37	-0,87	-0,36
7,66	-1,77	-9,03	-1,74

Man erkennt aus der Tabelle eine deutliche Abhängigkeit des B-Wertes vom p_H -Wert. Trägt man B gegen p_H graphisch auf, so lässt sich angenähert eine Gerade durch die Punkte ziehen.

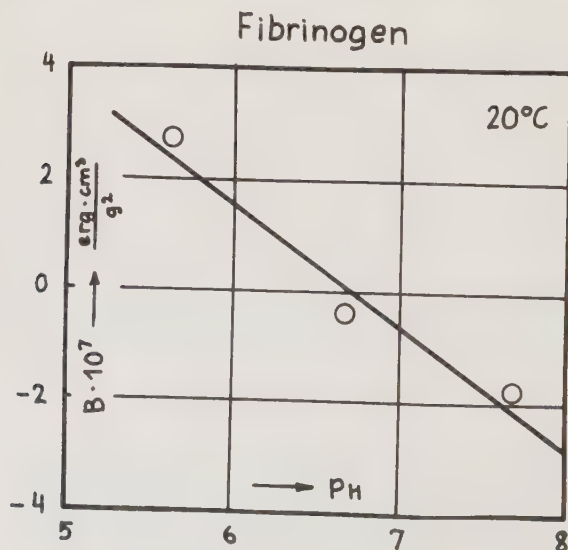


Bild 7. p_H -Abhängigkeit des 2. Virialkoeffizienten.

Auffallend ist der im ganzen niedrige B-Wert. Er liegt in der Grössenordnung $10^{-7} \left[\frac{\text{atm l}^2}{\text{g}^2} \right]$, während der B-Wert sonstiger hochpolymerer Stoffe in der Grössenordnung $10^{-6} \left[\frac{\text{atm l}^2}{\text{g}^2} \right]$ liegt. Offenbar ist es eine bei den Proteinen allgemein vorhandene Eigenschaft, ein annähernd ideales Verhalten zu zeigen, wie Messungen an anderen Proteinen gezeigt haben. Jedoch sprechen andere Erscheinungen gegen ein solches Verhalten, da z. B. Proteine besonders leicht bei niedrigen Temperaturen ausfallen, und zwar noch einige Grade vor Gefrieren der Lösung. Das Ausfallen ist reversibel und zeigt deutlich, dass die Lösung nicht ideal sein kann. Ein Zusammenhang mit den vorliegenden Messungen und den zuletzt beschriebenen Eigenschaften könnte bestehen, wenn man annimmt, dass die gemessenen Fibrinogenlösungen pseudoideal sind, zumindest beim p_H -Wert 6,66, wo der B-Wert annähernd Null ist. Exakte Aussagen über ein pseudoideales Verhalten können jedoch nur Messungen der Temperaturabhängigkeit von B machen. Man kann hierdurch eine Aufgliederung des chemischen Zusatzpotentials in Enthalpie und Zusatzentropie erreichen. Prinzipiell könnte man eine Lösung des Problems also auch durch Messung der Verdünnungswärme, etwa in einem Kalorimeter, erwarten. Nun sind aber kalorimetrische Messungen der Verdünnungswärme an Proteinen äusserst schwierig. Auch die Messung der Temperaturabhängigkeit der Diffusions- und besonders der Sedimentations-Konstanten, fällt wegen der technischen Schwierigkeiten weg. Wir haben daher, wie im Kapitel IV noch gezeigt wird, die Temperaturabhängigkeit der Lichtzerstreuung zur Lösung des Problems herangezogen.

d) Das Achsenverhältnis und die absoluten Abmessungen des Moleküls.

Die Reibungsverhältnisse sind nach Gleichung (45) für die verschiedenen p_H -Werte berechnet worden. Auf Grund von Gleichung (46) lassen sich hieraus aus der von Svedberg und Pedersen angegebenen Tabelle die Achsenverhältnisse berechnen.

Nimmt man an, dass diese Achsenverhältnisse auch näherungsweise für Zylinder gelten, so lässt sich hieraus und aus Molekulargewicht M und Dichte ρ_F des Fibrinogens eine rohe Abschätzung des Durchmessers d und der Länge l des Moleküls machen. Die Dichte ρ_F kann angenähert dem reziproken Wert des partiellen spezifischen Volumens v_2 gleichgesetzt werden. Für das Volumen V eines Moles Fibrinogenmoleküle erhalten wir

$$V = N_L l \frac{d^2}{4} \pi = M \rho_F = \frac{M}{v_2} \quad (57)$$

und da $q = \frac{1}{d}$, lässt sich l durch $q d$ ersetzen. Der Durchmesser lässt sich dann berechnen nach

$$d = \sqrt{\frac{4 M \rho_F}{N_L q \pi}} \quad (57a)$$

Aus q und d lässt sich dann auch l berechnen. In Tabelle 16 sind alle berechneten Grössen zusammengestellt.

Tabelle 16

p_H	M	q	d [Å]	l [Å]
5,57	367 000	34,3	31	1083
6,66	376 000	32,9	29	964
7,66	310 000	24,7	33	826

e) Zusammenfassung der Ergebnisse aus III.).

In Tabelle 17 sind nochmals alle wichtigen Grössen zusammengestellt:

Tabelle 17

P_H	M $\left[\frac{g}{mol} \right]$	$D_{0,20}$ $\left[\frac{cm^2}{sec} \right]$ 10^7	$S_{0,20}$ $\left[\frac{cm}{sec \ dyn} \right]$ 10^{13}	K_D $\left[\frac{cm^3}{g} \right]$	K_S $\left[\frac{cm^3}{g} \right]$	B $\left[\frac{erg \ cm^3}{g^2} \right]$ 10^7	q $[Q]$	d $[Q]$	l $[Q]$
5,57	367000	1,82	7,99	11,5	- 3,3	+8,2	34,3	31	1083
6,66	376000	1,86	8,36	15,3	-16,4	-1,1	32,9	29	964
7,66	310000	2,21	8,20	21,1	-25,6	-4,5	24,7	33	826

Formelzeichen zu IV.

c	: Konzentration des Gelösten	$[g\ cm^{-3}]$
R_{θ}	: Intensität der Streustrahlung bei Einheitsabstand für die Primärintensität 1,	$[cm^{-1}]$
M	: Molekulargewicht des Gelösten	$[g\ mol^{-1}]$
B	: 2. Virialkoeffizient des osmotischen Druckes	$[erg\ cm^3\ g^{-2}]$
C	: 3. Virialkoeffizient des osmotischen Druckes	$[erg\ cm^6\ g^{-3}]$
R	: Allgemeine Gaskonstante	$[erg\ grad^{-1}\ mol^{-1}]$
T	: Absolute Temperatur	$[grad]$
$P(\theta)$	: Streufunktion	
λ	: Wellenlänge	$[cm]$
λ_0	: " im Vakuum	$[cm]$
θ	: Winkel unter welchem die Streuintensität R_{θ} gemessen wird	
n_1	: Brechungsindex des Lösungsmittels	
n_B	: " von Benzol	
$\frac{dn}{dc}$	: Brechungsinkrement des Gelösten im Lösungsmittel	$[cm^3\ g^{-1}]$
R_{θ}^*	: Intensität der Gesamtstreustrahlung bei Einheitsabstand für die Primärintensität 1	$[cm^{-1}]$
R_{θ}^{LM}	: Intensität der Streustrahlung des Lösungsmittels bei Einheitsabstand für die Primärintensität 1	
S	: Eingestellte Potentiometerstufe	
F	: Eichfaktor der verwendeten Apparatur	

$P_{A,90}$	: Potentiometerstellung bei Absolutmessung unter dem Winkel 90°	
$P_{R,\theta}$	: Potentiometerstellung bei Relativmessung unter dem Winkel θ°	
$P_{R,90}$	: Potentiometerstellung bei Relativmessung unter dem Winkel 90°	
$P_{V,90}$	: Potentiometerstellung bei Absolutmessung unter dem Winkel 90° bei vertikal polarisiertem Primärlicht	
$P_{H,90}$	: Potentiometerstellung bei Absolutmessung unter dem Winkel 90° bei horizontal polarisiertem Primärlicht	
Δu_1	: Chemisches Potential	$[\text{erg g}^{-1}]$
Δh_1	: Verdünnungsthalpie	$[\text{erg g}^{-1}]$
Δs_1	: Verdünnungsentropie	$[\text{erg g}^{-1} \text{ grad}^{-1}]$
$\bar{v}_1$	: Partielles spezifisches Volumen des Lösungsmittels	$[\text{cm}^3 \text{ g}^{-1}]$
p	: Osmotischer Druck	$[\text{dyn cm}^{-2}]$
Δu_1^E	: Zusatzpotential	$[\text{erg g}^{-1}]$
Δs_1	: Zusatzentropie	$[\text{erg g}^{-1} \text{ grad}^{-1}]$
x_0	: Potentiometerstellung am Galvanometer bei Normalstellung der Küvette.	
x	: Potentiometerstellung am Galvanometer bei Drehung der Küvette um 180° .	
P	: Eichfaktor des Refraktometers	
n	: Brechungsindex für eine Flüssigkeit bei der Wellenlänge λ	
n_0	: " " " " " " " " λ_0	
R_2	: Spezifische Refraktion des Gelösten	$[\text{cm g}^{-1}]$
$\bar{v}_2$	: Partielles spezifisches Volumen des Gelösten	$[\text{cm g}^{-1}]$

IV.) Lichtzerstreuungsmessungen.

1.) Grundlagen der Lichtzerstreuung.

- a) Das Molekulargewicht und die äusseren Abmessungen des Moleküls.

Auch in diesem Abschnitt sei gleich von vornherein gesagt, dass eine ausführliche Theorie nicht gegeben zu werden braucht, da es genügend über die Theorie der Lichtzerstreuung umfassend aussagende Arbeiten gibt (103, 104, 105, 106, 107). Im folgenden sei daher nur das zum besseren Verständnis der Messungen Notwendige gesagt.

Die von Debye (87) auf Grund der Schwankungstheorie von v. Smoluchowski (86) und Einstein (85) aufgestellte Beziehung

$$K \frac{c}{R_\theta} = \frac{1}{M} + \frac{2Bc}{RT} + \frac{3Cc^2}{RT} + \dots \quad (44a)$$

gilt für Molekeln, die $\ll \lambda$ sind. Werden Moleküle gemessen, deren Abmessung $\leq \lambda$ sind, so wird das Streulicht progressiv in Abhängigkeit vom Winkel um den Betrag $P(\theta)$ geschwächt. $P(\theta)$ ist die sogenannte Streufunktion, die von innermolekularer Interferenzauslöschung herrührt. Für diesen Fall ist die Konzentrationsabhängigkeit der Lichtzerstreuung durch die von Zimm (108) abgeleitete Beziehung gegeben:

$$K \frac{c}{R_\theta} = \frac{1}{P(\theta)M} + \frac{2Bc}{RT} + \frac{3Cc^2}{RT} + \dots \quad (58)$$

Für die vom Winkel und von der Wellenlänge abhängige Funktion $P(\theta)$ haben verschiedene Autoren (108, 109, 110, 111, 112, 113, 114) bei zugrunde legen geeigneter Modelle (statistisch geknäulte Fadenketten, starre Stäbchen, isotrope Kugeln usw.) Beziehungen angegeben, die es gestatten, aus (noch weiter unten zu besprechenden) Messgrössen die äusseren Abmessungen des Moleküls zu berechnen. Neugebauer (110) und Debye (109) haben für starre Stäbchen (die uns in dieser Arbeit besonders interessieren) folgende Funktion angegeben:

$$P(\theta) = \frac{1}{x} \int_0^{2x} \frac{\sin w}{w} dw - \left(\frac{\sin x}{x} \right)^2 \quad (59)$$

Hierin ist

$$x = \frac{k s L}{2} \quad (60)$$

wobei

$$k = \frac{2\pi}{\lambda} \text{ und } s = 2 \sin \frac{\theta}{2} \quad (60a \text{ u. } b)$$

Die Streufunktion $P(\theta)$ kann, weil sowohl die Wellenlänge λ , als auch der Winkel θ in die Beziehung (59) eingeht, entweder bei konstanter Wellenlänge und zwei Winkeln oder bei konstanten Winkeln und zwei Wellenlängen bestimmt werden, um dann hieraus die Länge L des Moleküls zu berechnen. Bei erstgenannter Methode bestimmt man die Unsymmetrie Z der Lichtstreuung, und zwar durch Messung der Streuintensitäten bei 45° und 135° . Man erhält die Unsymmetrie dann aus

$$Z = \frac{R_{45}}{R_{135}} = \frac{P(45)}{P(135)} \quad (61)$$

Bei der zweiten, von Schulz und Harborth (115) eingeführten Methode, wird die Intensität der Streustrahlung R_{90} bei zwei verschiedenen Wellenlängen gemessen. Ist die Wellenlänge λ grösser als die Wellenlänge λ'' , so erhält man das sogenannte relative Streuverhältnis ψ aus (62)

$$\psi = \frac{R'_{90}}{R_{90}} \frac{K'_{90}}{K_{90}} = \frac{P(\theta)'}{P(90)''} \quad (62)$$

Die aus Z und ψ sehr mühselig nach (59) zu berechnende Funktion $P(\theta)$ ist in Abhängigkeit von der Wellenlänge von Doty und Steiner (116), sowie von Cantow (106) tabellarisch aufgeführt, so dass man unmittelbar aus Z und ψ die Länge L des Moleküls aus den Tabellen entnehmen kann.

Die in Gleichung (58) vorkommende Konstante K ist für vertikal polarisiertes Primärlicht durch die Beziehung

$$K = \frac{4 \pi^2 n_1^2}{N_L \lambda_o^4} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2 f \quad (63)$$

gegeben. Der Brechungsindex des Lösungsmittels n_1 und das Brechungsinkrement $\frac{dn}{dc}$ sind Temperatur- und wellenlängenabhängig. K muss daher für jede Temperatur und jede Wellenlänge, bei welchen die Lichtstreuungsmessungen durchgeführt werden, bestimmt werden.

f ist der sogenannte Cabannes'scher Faktor (117), der bei den Messungen in dieser Arbeit vernachlässigt werden kann.

Die Intensität der Streustrahlung R_θ lässt sich wie folgt bestimmen. Die vom Lösungsmittel abgestrahlte Streuung R_θ^{LM} muß von der Gesamtstreuung R_θ^* abgezogen werden. Es gilt:

$$R_\theta = R_\theta^* - R_\theta^{LM} \quad (64)$$

Die Gesamtstreuung R_θ^* lässt sich aus den einzelnen Messdaten aus der Beziehung

$$R_\theta^* = S F r P_{A,90} \frac{P_{R,\theta}}{P_{R,90}} \sin \theta \quad (65)$$

berechnen. Der Faktor r kommt herein, weil die in unserem Institut verwendeten Apparate mit Benzol geeicht werden. Er errechnet sich aus

$$r = \frac{n_1^2}{n_B^2} \quad (66)$$

Auch hier geht die Temperaturabhängigkeit, sowie die Dispersion der Brechungsindizes ein, so dass r für jede Wellenlänge und jede Temperatur bei denen gemessen wird bestimmt werden muss.

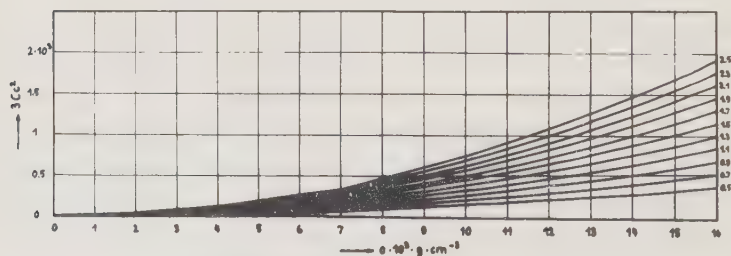
Der $P_{A,90}$ -Wert setzt sich aus den Werten für die Streuung bei vertikalem und horizontalem Primärlicht zusammen. Wegen der nicht senkrechten Anordnung der Multiplier-Photokathode gegenüber der aus dem horizontalen Primärlicht stammenden Streuung muss vom "Horizontalwert" 10 % abgezogen werden. $P_{A,90}$ errechnet sich dann aus (67)

$$P_{A,90} = P_{V,90} + (P_{H,90} - 10\% P_{H,90}) \quad (67)$$

Die Bestimmung des Molekulargewichtes wurde durch Messung der Lichtstreuung bei 90° durchgeführt. Die Auswertung der Messungen bezüglich der Molekulargewichtsbestimmung ergibt sich aus Gleichung (58). Es wurde bei drei verschiedenen Wellenlängen ($\lambda_1 = 3660 \text{ \AA}$, $\lambda_2 = 4660 \text{ \AA}$ und $\lambda_3 = 5460 \text{ \AA}$) die Konzentrationsabhängigkeit gemessen. Auftragung von $K \cdot c/R_{90}$ gegen c und Extrapolation gegen Null liefert nach Berücksichtigung der Streufunktion das Molekulargewicht. Nach Ermittlung der Streufunktion lässt sich das Molekulargewicht bestimmen. Die Fehlergrenze bei den Lichtstreuungsmessungen beträgt relativ etwa $\pm 5\%$ und absolut etwa $\pm 10\%$. Der Effekt der Wellenlängenabhängigkeit zwischen den Wellenlängen $3660 \text{ \AA}$ und $4660 \text{ \AA}$ sowie 4660 und $5460 \text{ \AA}$ macht jeweils nur etwa 2% aus, zwischen $3660 \text{ \AA}$ und $5460 \text{ \AA}$ also etwa 4% . Die Ermittlung von $P(\theta)$ ist daher bei kleinen Abweichungen von 1 mit einem Fehler von 100% behaftet, was zwar für die Ermittlung des Molekulargewichtes nicht so sehr ins Gewicht fällt, aber die Bestimmung der Länge des Fibrinogens aus der Wellenlängenabhängigkeit ungenau macht (eine ganz rohe Abschätzung kann vielleicht aus dem Φ -Wert für die Wellenlängen $3660 \text{ \AA}$ und $5460 \text{ \AA}$ gemacht werden). Für die Bestimmung der Länge des Fibrinogenmoleküls wurde daher die Unsymmetrie Z aus der Winkelabhängigkeit ermittelt, und zwar bei zwei Wellenlängen ($4060 \text{ \AA}$ und $5460 \text{ \AA}$), die die Längenabmessung mit einem Fehler von 5% liefert.

b) Die Bestimmung des 2. und 3. Virialkoeffizienten des osmotischen Druckes aus Lichtzerstreuungsmessungen. Der Zusammenhang zwischen Lichtzerstreuung und osmotischem Druck wurde bereits unter III.) 1.) b) beschrieben. Die Bestimmung des 2. und 3. Virialkoeffizienten ergibt sich aus Gleichung (58). Praktisch kann B und C entweder graphisch oder rechnerisch bestimmt werden. In beiden Fällen muss jedoch die Extrapolation im $\frac{Kc}{R_\theta} - c$ - oder besser im $\frac{KcR'T}{R_\theta} - c$ - Diagramm gegen Null vorher erfolgen, was man am besten dadurch erreicht, dass noch bei möglichst niedrigen Konzentrationen gemessen wird.

Das graphische Verfahren zur Ermittlung von B und C kann dann angewandt werden, wenn keine allzu grosse Genauigkeit verlangt wird, oder wenn die B- und C-Werte relativ hoch sind. Für das graphische Verfahren stellt man sich eine, auf durchsichtigem Papier gezeichnete Schablone her, die aus einer Kurvenschar der Funktion $3Cc^2$ gegen c besteht.



Dem B-Wert entspricht hier die Null-Linie, wobei die Null-Linie sich mit der Abszisse deckt. Jede Kurve entspricht einem C-Wert. Bringt man den Nullpunkt der Schablone mit dem im $\frac{K \cdot c \cdot R \cdot T}{R_{\theta}}$ - c - Diagramm für $c \rightarrow 0$ erhaltenen Extrapolationswert in Deckung, so kann man durch Drehen um diesen Punkt als Achse die günstigste Kurve, die im Idealfall alle Messpunkte deckt, mit dem entsprechenden C-Wert ermitteln. Den B-Wert erhält man dann unmittelbar aus der Steigung der Schablonen-Abszisse.

Rechnerisch kann B und C ermittelt werden, wenn man Differenzwerte von den zu den Konzentrationen c' und c'' gehörenden $(\frac{K \cdot c \cdot R \cdot T}{R_{\theta}})'$ - und $(\frac{K \cdot c \cdot R \cdot T}{R_{\theta}})''$ - Werte bildet. Aus der umgeformten Gleichung (58)

$$\frac{K \cdot c \cdot R \cdot T}{R_{\theta}} = \frac{RT}{P(\theta)M} + 2Bc + 3Cc^2 \quad (58a)$$

erhält man durch Subtrahieren der zu c' und c'' gehörenden Gleichungen

$$(\frac{K \cdot c \cdot R \cdot T}{R_{\theta}})'' - (\frac{K \cdot c \cdot R \cdot T}{R_{\theta}})' = B^*(c'' - c') + C^*(c''^2 - c'^2) \quad (68)$$

wobei für $2B = B^*$ und für $3C = C^*$ gesetzt wurde. Da $(c''^2 - c'^2) = (c'' - c')(c'' + c')$ erhält man durch Division von Gleichung (68) durch $(c'' - c')$

$$\frac{(\frac{K \cdot c \cdot R \cdot T}{R_{\theta}})'' - (\frac{K \cdot c \cdot R \cdot T}{R_{\theta}})'}{c'' - c'} = B^* + C^*(c'' + c') \quad (68a)$$

Trägt man die linke Seite der Gleichung (68a) gegen $(c'' + c')$ auf, so erhält man eine Gerade, die an die einzelnen Messpunkte durch die Methode der kleinsten Fehlerquadrate angeglichen werden kann. In den bereits angegebenen Beziehungen

$$a = \frac{\sum x \sum xy - \sum (x^2) \sum y}{(\sum x)^2 - n \sum (x^2)} \quad (55a)$$

und

$$b = \frac{\sum x \sum y - n \sum xy}{(\sum x)^2 - n \sum (x^2)} \quad (55b)$$

setzen wir für

$$y = \frac{\left(\frac{K c R T}{R_{\theta}}\right)'' - \left(\frac{K c R T}{R_{\theta}}\right)'}{c'' - c'}$$

und für

$$x = (c'' + c')$$

Entsprechend steht dann für $a \equiv B^*$ und für $b \equiv C^*$.

- c) Berechnung der thermodynamischen Daten aus Messungen der Temperaturabhängigkeit der Lichtzerstreuung.
- Für die Berechnung der thermodynamischen Daten aus Lichtzerstreuungsmessungen können drei Verfahren angewandt werden. Alle drei Verfahren fassen auf der Gültigkeit der in III.) 1.) b) bereits erwähnten Schwankungstheorie (85, 86, 87). Das von Reik und Gebert (118) angegebene Verfahren, aus den B- und C-Werten des osmotischen Druckes und dem Molekulargewicht des Gelösten die thermodynamischen Daten zu berechnen, geht von der Gibbs-Helmholtz'schen Gleichung aus. Hiernach ist

$$\Delta / u_1 = \Delta h_1 - T \Delta s_1 \quad (69)$$

Hieraus erhält man durch Differentiation

$$\frac{\partial \Delta / u_1}{\partial T} = - \Delta s_1 \quad (70)$$

Das chemische Potential des Lösungsmittels Δ/u_1 hängt über die Beziehung

$$p \bar{v}_1 = - \Delta/u_1 \quad (71)$$

mit dem osmotischen Druck p der Lösung zusammen. Setzt man für p die Beziehung in Gleichung (38), so erhält man für

$$\Delta/u_1 = - \left[\frac{R}{M} c + B(T) c^2 + C(T) c^3 \right] \bar{v}_1 \quad (72)$$

Differenziert man (72) partiell, so ergibt sich

$$\frac{\partial \Delta/u_1}{\partial T} = - \left[\frac{R}{M} c + \frac{dB(T)}{dT} c^2 + \frac{dC(T)}{dT} c^3 \right] \bar{v}_1 \quad (73)$$

Setzt man für $\frac{dB(T)}{dT} = B'(T)$ und für $\frac{dC(T)}{dT} = C'(T)$ und berücksichtigt (70), so ergibt sich

$$\Delta s_1 = \left[\frac{R}{M} c + B'(T) c^2 + C'(T) c^3 \right] \bar{v}_1 \quad (73a)$$

Ersetzt man in Gleichung (69) Δs_1 durch die Beziehung (70), so erhält man nach entsprechender Umformung

$$\Delta h_1 = \Delta/u_1 - T \frac{\partial \Delta/u_1}{\partial T} \quad (74)$$

Δ/u_1 kann durch (72) und $\frac{\partial \Delta/u_1}{\partial T}$ kann durch (73) substituiert werden. So ergibt sich für Δh_1 die Beziehung:

$$\Delta h_1 = \left[B'(T) T - B(T) + C'cT - C(T) c \right] c^2 \bar{v}_1 \quad (75)$$

Bei der Methode von Schulz und Doll (119) wird die Bestimmung der B' und C' umgangen. Es wird von Gleichung (69) aus-

gegangen. Division durch T ergibt

$$\frac{\Delta/u_1}{T} = \frac{\Delta h_1}{T} - \Delta s_1 \quad (69a)$$

Wird (69a) nach der reziproken Temperatur partiell differenziert, so kommt man zu

$$\frac{\partial \frac{\Delta/u_1}{T}}{\partial (\frac{1}{T})} = \Delta h_1 \quad (76)$$

Setzt man in (76) für $\Delta/u_1 = -p\bar{v}_1$ (71), so ergibt sich

$$\frac{\partial \frac{p\bar{v}_1}{T}}{\partial (\frac{1}{T})} = -\Delta h_1 \quad (77)$$

Wählt man bei der praktischen Auswertung die in (77) vorkommenden Infinitesimal-Differenzen genügend klein, so kann statt (77) auch geschrieben werden

$$-\Delta h_1 = \left[\frac{\bar{v}_1' p' / T' - \bar{v}_1'' p'' / T''}{1/T' - 1/T''} \right] \quad (77a)$$

wobei T' die niedrigere und T'' die höhere Temperatur sein soll. $\bar{v}_1' p'$ bzw. $\bar{v}_1'' p''$ wird nach Gleichung (72) aus den über Gleichung (58a) ermittelten B- und C-Werten berechnet.

Die beiden soeben beschriebenen Verfahren sind hauptsächlich dann anwendbar, wenn B und C relativ hohe Werte haben und der Effekt der Temperaturabhängigkeit gross ist. Der prozentuale Fehler bei der Differenzenbildung bleibt dann noch verhältnismässig klein. Einen Überblick über den tatsächlichen

Fehler verliert man jedoch leicht, wenn die B- und C-Werte, sowie deren Temperaturabhängigkeit, klein sind. Das macht sich besonders dann bemerkbar, wenn man zur Berechnung der thermodynamischen Exzessgrössen (Zusatzpotential, Zusatzenthalpie und Zusatzentropie), die ja bei der Beurteilung des thermodynamischen Verhaltens der Proteinlösungen besonders interessieren, übergeht. Für den Fall der realen Lösung lassen sich die vorhin beschriebenen thermodynamischen Funktionen in einen für das ideale und einen für das reale Verhalten charakteristischen Term aufgliedern. Es gelten dann die Beziehungen:

$$\Delta u_1 = \Delta u_1^* + \Delta u_1^E \quad (78)$$

$$\Delta h_1 = \Delta h_1^* + \Delta h_1^E \quad (79)$$

$$\Delta s_1 = \Delta s_1^* + \Delta s_1^E \quad (80)$$

Für die mit einem E gekennzeichneten Zusatzfunktionen gilt ebenfalls die Gibbs-Helmholtz'sche Gleichung

$$\Delta u_1^E = \Delta h_1^E - T \Delta s_1^E \quad (81)$$

Prinzipiell lassen sich die Zusatzfunktionen natürlich auch aus den oben beschriebenen Verfahren berechnen, da Δu_1^* aus dem Molekulargewicht berechenbar ist. Hierfür gilt:

$$\Delta u_1^* = - \frac{R}{M} T \bar{v}_1^c \quad (82)$$

Δh_1^* ist immer Null, so dass $\Delta h_1 = \Delta h_1^E$ ist. Über (78) lässt sich Δu_1^E , über (81) Δh_1^E und über (80) kann man schliesslich Δs_1 berechnen.

Im folgenden sei nun ein Verfahren beschrieben, welches es gestattet, die Zusatzfunktionen unmittelbar aus den Lichtstreuungsmessungen zu berechnen, und zwar so, dass die Steuerung der Messpunkte mit in die Rechnung eingeht. Gleichzeitig

macht dieses Verfahren die vorherige Berechnung der B- und C-Werte überflüssig. Wir gehen aus von Gleichung (58a), die sich wie unter III.) 1.) b) beschrieben aus der Schwankungstheorie (85, 86, 87) ergibt. Auf Grund der Schwankungstheorie lässt sich für die Gleichung

$$RT \frac{K}{R_\theta} = \frac{1}{P(\theta)} \frac{RT}{M} + 2Bc + 3Cc^2 + \dots \quad (58a)$$

auch schreiben

$$RT \frac{K}{R_\theta} = \frac{1}{P(\theta)} \frac{dp^*}{dc} + \frac{dp^E}{dc} \quad (83)$$

Multiplikation mit dem partiellen spezifischen Volumen des Lösungsmittels $\bar{v}_1$ ergibt, da $\Delta/u_1 = -\bar{v}_1 p$

$$\bar{v}_1 RT \frac{K}{R_\theta} = -\frac{1}{P(\theta)} \frac{d \Delta/u_1^*}{dc} - \frac{d \Delta/u_1^E}{dc} \quad (84)$$

Aus (82) findet man durch Differentiation für

$$\frac{d \Delta/u_1^*}{dc} = -\frac{RT}{M} \bar{v}_1 \quad (85)$$

Setzt man (85) in (84) ein und formt entsprechend um, so ergibt sich

$$RT \bar{v}_1 \frac{K}{R_\theta} - \frac{RT \bar{v}_1}{M P(\theta)} = -\frac{d \Delta/u_1^E}{dc} \quad (86)$$

Multipliziert man Gleichung (86) mit dc und integriert, so ergibt sich

$$RT \bar{v}_1 \int_0^c \left(\frac{K}{R_\theta} - \frac{1}{M P(\theta)} \right) dc = -\Delta/u_1^E \quad (87)$$

Gleichung (87) ist für jeden Winkel und für jede Wellenlänge gültig. Im $RT\bar{v}_1 \frac{K}{R\Theta} - c$ - Diagramm stellt der unter dem Integral stehende Ausdruck $RT\bar{v}_1 \frac{K}{R\Theta}$ den für die entsprechende Konzentration gültigen Messwert der Lichtzerstreuung dar, während der ebenfalls unter dem Integral stehende Ausdruck $RT\bar{v}_1 \frac{1}{M P(\Theta)}$ der Ordinatenabschnitt im Diagramm ist. Die Durchführung der Integration erfolgt am zweckmässigsten graphisch. Mit den für verschiedene Temperaturen erhaltenen Δu_1^E - Werten kann man unmittelbar wieder in die Beziehung (77a) eingehen, da die Differenz der Exzessgrössen den gleichen Wert ergibt, wie die Differenz der Gesamtfunktionen.

$$\bar{v}_1' p' - \bar{v}_1'' p'' = \bar{v}_1' p'^E - \bar{v}_1'' p''^E \quad (88)$$

oder

$$\Delta u_1' - \Delta u_1'' = \Delta u_1'^E - \Delta u_1''^E \quad (89)$$

2.) Verwendete Apparaturen.

a) Lichtzerstreuungsapparatur für einen Messwinkel von 90° .

Für die Messung der Temperatur und Winkelabhängigkeit der Lichtzerstreuung kam eine von Herrn Dr. Cantow konstruierte in unserem Institut gebaute Apparatur zur Verwendung. Die Streuintensität wird hierbei durch eine Photozelle mit Sekundärelektronen-Vervielfacher gemessen. Die Saugspannung in der Photozelle wird durch eine hochtransformierte Netzspannung, die gleichgerichtet und durch Glimmröhren stabilisiert wird, erzeugt. Zur Messung der durch die Photozelle verstärkten Streustrahlung dient ein hochempfindliches Lichtzeigergalvanometer mit verschiedenen Empfindlichkeitsstufen. Die Netzspannung für den Hochspannungstransformator wird noch durch einen Spannungsstabilisator vorstabilisiert. Desgleichen wird die Spannung der als Lichtquelle verwendeten Quecksilberhöchstdrucklampe stabilisiert. Die Küvettenhalterung ist mit

einem Mantel umgeben, der mit thermokonstanter Flüssigkeit durchspült werden kann. Als Arbeitsstandard, dessen Absolutintensität mit einer benzolischen Polystyrollösung geeicht wurde, diente ein Trübgaskörper der Fa. Schott. Die Wellenlänge wurde durch auswechselbare Filter variiert.

Die Messungen bei 6°C gestalteten sich insofern schwierig, als sich am Sockel der mit Hochspannung gespeisten Photozelle von Zeit zu Zeit ein dünner Feuchtigkeitfilm bildete. Hierdurch wurde die Isolationsfähigkeit des Sockels derart herabgesetzt, dass Kriechströme entstanden, die eine Nullpunkteinstellung und ein Ablesen eines Messwertes am Galvanometer unmöglich machten. Die Apparatur musste zur Beseitigung dieser Störung jedesmal auseinander genommen, und der Sockel mit einem Warmluft-"Föhn" sorgfältig getrocknet werden. Die Eichfaktoren F für die Apparatur gehen aus Tabelle 18, die Galvanometerkonstanten gehen aus Tabelle 19 hervor.

Tabelle 18

Wellenlänge	F [cm ⁻¹]
3660 Å	12862 10 ⁻⁶
4360 Å	2960 10 ⁻⁶
5460 Å	312 10 ⁻⁶

Tabelle 19

Stufe	S
1 - 2	3,40
2 - 3	2,52
1 - 3	8,56
3 - 4	2,66
4 - 5	3,76
3 - 5	10,00
1 - 5	85,68
2 - 5	25,20

- b) Lichtzerstreuungsapparatur nach Cantow für Messungen bei verschiedenen Winkeln.

Für die Messungen der Winkelabhängigkeit der Lichtzerstreuung zur Ermittlung der Unsymmetrie Z kam ein Streulichtphotometer nach H.-J. Cantow der Fa. Netheler u. Hinz (Hamburg 20, Falkenried 74) zur Verwendung. Wegen Einzelheiten über die Konstruktion der Apparatur sei auf die Literatur (106, 120, 121) verwiesen.

Die Eichfaktoren F für die Apparatur sind

$$\begin{array}{ll} \text{für } 4360 \text{ \AA:} & 92,0 \cdot 10^{-6} \\ \text{für } 5460 \text{ \AA:} & 39,8 \cdot 10^{-6} \end{array}$$

Die Galvanometerkonstanten sind ganzzahlig und am Schaltknopf eingraviert.

- c) Der Thermostat.

Die Thermostatisierung bei 26°C erfolgte mit einem normalen Höppler-Thermostaten. Die Temperaturkonstanz war $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Die Einstellung der niedrigeren Temperaturen (6° und 16°C) wurde mit einem Kühlthermostaten ²⁾ vorgenommen. Der Kühlthermostat, der aus einem 120 Liter fassenden Behälter besteht, ist mit einem luftgekühlten Linde-Kühlaggregat (Type C 32 FL U) ausgerüstet. Die Steuerung der Kühlmaschine wird mittels Kontaktthermometer und Heju-Relais, welche auf ein Anschütz-Relais reagieren, bewirkt. Zur Vermeidung von Eisbildung ist der Thermostat mit einer Glycerin-Wasser-Mischung gefüllt und mit zwei wirksamen Rührern, die auch für gleichmässige Temperaturverteilung sorgen, ausgerüstet. Die Kühlflüssigkeit gelangt durch eine Umlaufpumpe zur Lichtzerstreuungs-Apparatur. Die mit diesem Thermostaten erreichte Temperaturkonstanz war besser als $\pm 0,05^{\circ}\text{C}$.

- d) Präparative Ultrazentrifuge.

Für die optische Reinigung der Lösungen eignete sich besonders die Spinco-Ultrazentrifuge Modell L (hergestellt von der Spinco Division, Beckmann Instruments, Inc.; Specialized Instruments Corporation, Belmont, Calif.). Diese hoch-

tourige Zentrifuge erlaubt die Zentrifugierung einer empfindlichen Lösung bei tiefen Temperaturen. Für die Klärung der Fibrinogenlösung wurde der Gehänge-Rotor Nr. SW 39 L verwendet (Fassungsvermögen 3×5 ccm). Die maximale Geschwindigkeit der Zentrifuge beträgt bei Verwendung dieses Rotors 40 000 U/Min. (mittleres Zentrifugalfeld 125 000 g). Die Zentrifuge kann bei dieser Geschwindigkeit bei Temperaturen von Zimmertemperatur abwärts bis zu -20°C mehrere Stunden lang laufen. Umlaufgeschwindigkeit, Temperatur und Laufdauer werden automatisch geregelt und können vor Beginn des Versuches eingestellt werden.

3.) Messung der Brechungssinkremente und Brechungsindices.

a) Die Apparatur.

Für die Messung der Brechungssinkremente sowie der Brechungsindices wurde das verbesserte hochempfindliche Differentialrefraktometer von Schulz, Bodmann und Cantow (122, 123) verwendet. Bei diesem Refraktometer wird die Ablenkung eines durch einen Spalt von $20\text{ }\mu$ abgeblendeten Lichtstrahles photometrisch im Differentialverfahren gemessen. Der an sich schon schmale Spalt wird mit der mit einer Mikrometerschraube (Ablesegenauigkeit $1/1000$ mm) verbundenen Photozelle in sehr kleinen Schritten abgetastet. Hierdurch erhält man eine Intensitätsverteilungskurve, deren Maximum der Ablenkung durch die Lösung gegenüber dem Lösungsmittel entspricht. Die Messungen wurden bei 16°C und 26°C durchgeführt. Die Thermostatisierung wurde in zwei Stufen vorgenommen. Der vor den Hauptthermostaten geschaltete Thermostat schickte ein um 1°C niedrigeres Kühlwasser mit einer Konstanz von $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ durch die Kühlschlangen des Hauptthermostaten. Hierdurch und durch die elektronische Steuerung des Hauptthermostaten konnte eine Temperaturkonstanz bei der zu messenden Lösung von etwa $\pm 0,02^{\circ}\text{C}$ erreicht werden. Als Hauptthermostat diente ein Herzog-Thermostat. Für die Vorthermostatisierung bei 16°C wurde der bereits unter IV.) 2.) c) beschriebene Kühlthermostat

(mit einer Konstanz von $\pm 0,05^{\circ}\text{C}$) verwendet. Für die Vorthermostatisierung bei 26°C kam ein zweiter Herzog-Thermostat mit normaler Heju-Relais-Steuerung zur Verwendung.

Aus zwei Ablesungen x und x_0 , die man erhält, wenn man die Küvette gegenüber der 1. Messung um 180° dreht, ergibt sich im Falle der Brechungsindices-Bestimmung die Grösse

$$n - 1 = \frac{x - x_0}{P_{\lambda}} \quad (90)$$

und für die Bestimmung des Brechungsincrementes die Grösse

$$dn = \frac{x - x_0}{P_{\lambda}} \quad (91)$$

P_{λ} ist hier der Eichfaktor des Refraktometers, der von der Wellenlänge abhängt. Mit der verwendeten Apparatur konnten n_1 und $\frac{dn}{dc}$ bei 3 verschiedenen Wellenlängen ($\lambda_1 = 5740 \text{ \AA}$; $\lambda_2 = 5530 \text{ \AA}$; $\lambda_3 = 4350 \text{ \AA}$) bestimmt werden. Tabelle 20 gibt die Eichfaktoren für diese 3 Wellenlängen an.

Tabelle 20

Wellenlänge	P_{λ}
5740 $\text{\AA}$	70,77 ₅
5530 $\text{\AA}$	70,79 ₇
4350 $\text{\AA}$	70,74 ₂

- b) Brechungsincrement der Lösung und Brechungsindex des Lösungsmittels in Abhängigkeit von Wellenlänge und Temperatur.

Die Lichtzerstreuungsmessungen wurden mit nur einem Lösungsmittel durchgeführt. Und zwar wurde Phosphatpuffer mit einem p_{H} -Wert von 6,66 und einer Ionenstärke von $\gamma_2 = 0,5$ als Lösungsmittel verwendet, weil dieses Lösungsmittel für die

Fibrinogenlösung bei den Sedimentations- und Diffusions-Messungen den am nächsten bei Null liegenden B-Wert ergab. Von Puffer und Lösung wurden die optischen Daten bei drei verschiedenen Wellenlängen bestimmt. Leider sind die im Differentialrefraktometer messbaren Wellenlängen ($\lambda_1 = 5740 \text{ \AA}$; $\lambda_2 = 5530 \text{ \AA}$; $\lambda_3 = 4350 \text{ \AA}$) nicht denen der Lichtzerstreuungsapparaturen angepasst ($\lambda_1 = 5461$; $\lambda_2 = 4358$; $\lambda_3 = 3660$). Man kann die gemessenen Werte für das Gebiet normaler Dispersion jedoch über die Hartmann'sche Dispersionsformel

$$n = n_0 + \frac{k}{\lambda(\lambda - \lambda_0)} \quad (91)$$

in Werte für die gewünschte Wellenlänge umrechnen. k und λ_0 sind Stoffkonstanten. Sehr praktisch ist die Verwendung von sogenanntem Dispersionspapier, dessen Koordinatensystem entsprechend der Hartmann'schen Dispersionsformel so gewählt wurde, dass sich bei Auftragung der Messgrößen (z.B. n oder $\frac{dn}{d\lambda}$) gegen die Wellenlänge eine Gerade ergibt. Wie Bild 9 zeigt, konnten durch die mit dem Differentialrefraktometer gemessenen Werte sehr gut Geraden gezogen werden.

Wie ersichtlich sind n_1 - und $\frac{dn}{d\lambda}$ -Werte im verschobenen Koordinatensystem für 16° und 26°C aufgetragen. Die Punkte sind die Messwerte, die Schnittpunkte der senkrechten Striche mit der Geraden stellen die extrapolierten Werte dar. Man erkennt, dass die Extrapolation für $\lambda = 3660 \text{ \AA}$ am unsichersten ist, weil die Messpunkte von diesem Wert am weitesten entfernt liegen. Ausserdem nähert man sich im UV-Gebiet sehr stark dem Gebiet der anomalen Dispersion, so dass es für zukünftige Messungen sehr wünschenswert wäre, wenn das Differentialrefraktometer auch für Messungen im oder nahe dem UV-Gebiet eingerichtet würde. Die Messungen konnten aus messtechnischen Gründen nur bei 16° und 26°C durchgeführt werden. Da wir wässrige Pufferlösungen messen, und die von uns gemessene Änderung des Brechungsinkrementes (für die Temperatur) zwischen 16° und 26°C genau mit dem aus der Literatur bekannten Wert für Wasser übereinstimmt, kann man wohl berechtig-

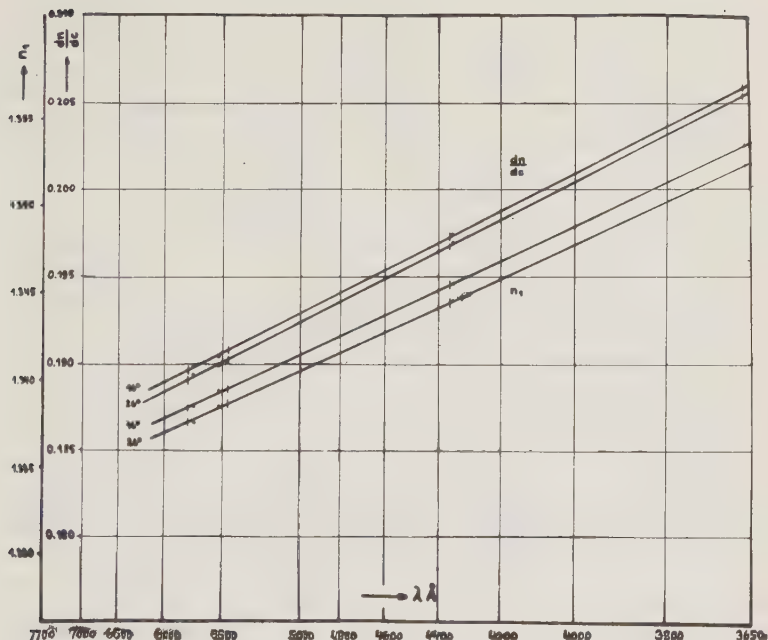


Bild 9. Abhängigkeit des Brechungsinkrements $\frac{dn}{dc}$ der Lösung und des Brechungsindex des Phosphatpuffers p_H 6,66 von der Wellenlänge bei 16 und 26°C. Die Ordinaten sind gegenseitig verschoben.

terweise den Wert für den Puffer innerhalb dieser Temperaturdifferenz nehmen. Im Bild 10 sind die aus der Literatur (124, 125) entnommenen n -Werte für Wasser für 2 verschiedene Wellenlängen ($\lambda_1 = 5460 \text{ \AA}$ und $\lambda_2 = 4360 \text{ \AA}$) gegen die Temperatur aufgetragen. Zwischen 6° und 16°C ergibt sich ein Inkrement von $\Delta n = 0,0005$ und zwischen 16° und 26°C ein solches von $\Delta n = 0,0010$.

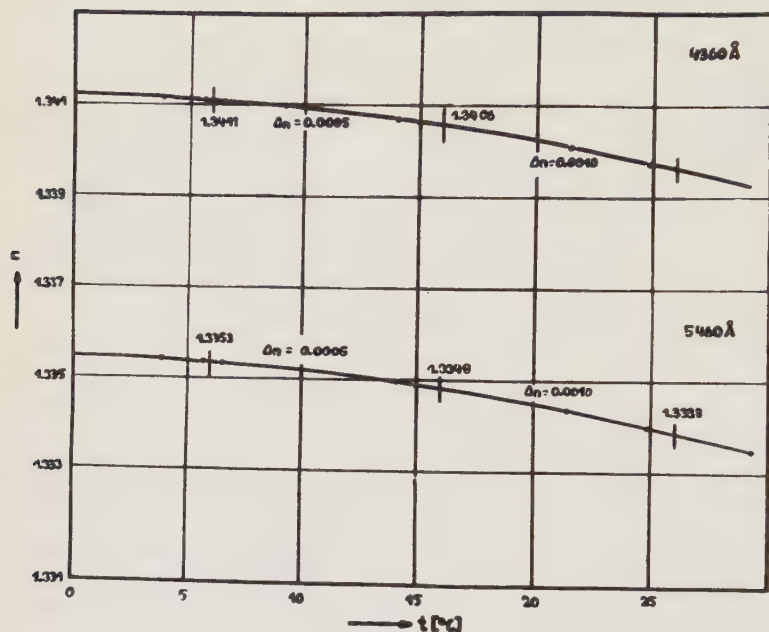


Bild 10. Temperaturabhängigkeit des Brechungsindex von Wasser bei 2 verschiedenen Wellenlängen.

Weil sich bei beiden Wellenlängen für den jeweils betrachteten Temperaturbereich der gleiche Wert für Δn ergab, wurde für $\lambda_3 = 3660 \text{ Å}$ zwischen 6° und 16°C $\Delta n = 0,0005$ und zwischen 16° und 26°C $\Delta n = 0,0010$ genommen.

Die so gewonnenen endgültigen n_1 -Werte sind in Tabelle 21 und die $\frac{dn}{dc}$ - Werte sind in Tabelle 22 nach Temperatur und Wellenlänge geordnet zusammengestellt:

Tabelle 21

$t^{\circ}\text{C} \backslash \lambda$	5460 Å	4360 Å	3660 Å
6	1,3400	1,3460	1,3535
16	1,3395	1,3455	1,353
26	1,3386	1,3445	1,352

Tabelle 22

$t^{\circ}\text{C} \backslash \lambda$	5460 Å	4360 Å	3660 Å
6	0,1911	0,1976	0,2065
16	0,1907	0,1972	0,206
26	0,1906	0,1971	0,206

c) Die r-Werte.

Unter IV.) 1.) a) wurde bereits erwähnt, dass wegen der Bichtung der Apparatur mit Benzol beim Übergang an Lösungen mit anderem Brechungsindex, die Streuintensitäten mit dem Faktor r (Gl. 66) zu multiplizieren sind (126). Auch dieser Faktor ist von der Wellenlänge und der Temperatur abhängig. Für die Berechnung von r wurden die Benzolwerte für n_B aus der Literatur entnommen (127, 128, 129) und aus der graphischen Darstellung (Bild 11) von n_B gegen λ für die Wellenlängen $\lambda_1 = 3660 \text{ Å}$, $\lambda_2 = 4360 \text{ Å}$ und $\lambda_3 = 5460 \text{ Å}$ extrapoliert worden. Aus dem Inkrement zwischen 20° (127, 129) und $12,3^{\circ}\text{C}$ (128) wurden dann die Werte für 6° , 16° und 26°C berechnet.

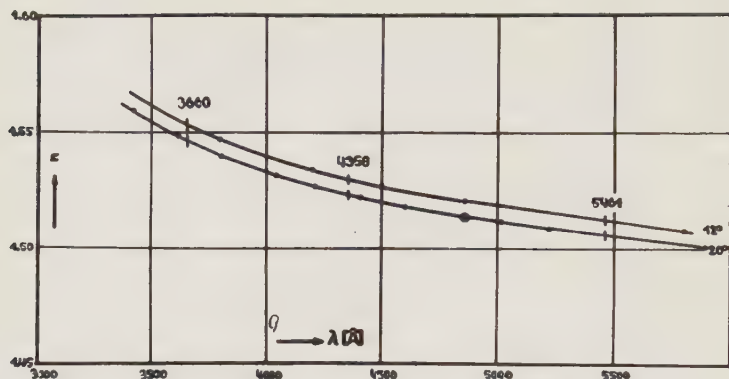


Bild 11. Wellenlängenabhängigkeit des Brechungsindexes für Benzol bei 12° und 20°C.

Die n -Werte sind in Tabelle 23 zusammengestellt.

Tabelle 23

$t^{\circ}\text{C}$ λ	5460 Å	4360 Å	3660 Å
6	0,7802	0,7686	0,7539
16	0,7881	0,7778	0,7628
26	0,7956	0,7858	0,7705

d) Die K -Werte.

Die wie unter IV.) 3.) b) beschrieben gemessenen n_1 - und $\frac{dn}{dc}$ - Werte lassen sich in die Beziehung (63) einsetzen und es lässt sich K hieraus berechnen. Die K -Werte für die Tempe-

raturen 6° , 16° und 26°C und für die Wellenlängen $\lambda_1 = 5460$; $\lambda_2 = 4360$ und $\lambda_3 = 3660$ sind aus Tabelle 24 zu ersehen.

Tabelle 24

λ $t^{\circ}\text{C}$	5460 Å	4360 Å	3660 Å
6	$4,8328 \cdot 10^{-7}$	$12,8560 \cdot 10^{-7}$	$28,5994 \cdot 10^{-7}$
16	$4,8090 \cdot 10^{-7}$	$12,7944 \cdot 10^{-7}$	$28,4400 \cdot 10^{-7}$
26	$4,7976 \cdot 10^{-7}$	$12,7622 \cdot 10^{-7}$	$28,2980 \cdot 10^{-7}$

4.) Messung der Lichtzerstreuung.

a) Optische Reinigung der Lösungen.

Die wie unter 1.) l.) beschrieben hergestellten Lösungen, wurden nach der Dialyse zur Beseitigung größerer Teilchen zunächst bei 15 000 U/Min. 15 Min. im Kühlraum ($\sim 0^{\circ}\text{C}$) mit Hilfe einer Runne-Zentrifuge zentrifugiert. Dann wurde die Lösung rasch in die Plastik-Becher der Ultrazentrifuge umgefüllt, genau tariert und in die auf 5°C vorgekühlte Ultrazentrifuge plaziert. Die Zentrifugation bei $+5^{\circ}\text{C}$ und 40 000 U/Min dauerte 40 Min. Die Pipette zum Abhebern der Lösung und die Messküvette wurden vor Benutzung je 15 Min. lang in einer Destillationsapparatur nach Thuermond (130) gespült, um sie optisch rein zu erhalten. Damit nichts vom abgesetzten Staub und den Mikrogelen in die Lösung gelangte, wurden höchstens $2/3$ der Lösung vorsichtig abpipettiert. Die Prüfung der Lösung auf optische Reinheit wurde im Streulichapparat nach Cantow (106, 120) vorgenommen. Hier wird die Lösung mit einer Lupe unter einem spitzen Winkel gegen den Primärstrahl beobachtet. Verunreinigungen erscheinen dann als glitzernde Sternchen. Für die Messungen wurden nur solche Lösungen genommen, bei denen keine Sternchen zu sehen waren. Die Konzentrations-

bestimmungen wurden nach der Messung an der Messlösung vorgenommen.

b) Wellenlängen- und Temperaturabhängigkeit der Lichtzerstreuung, gemessen bei einem Streuwinkel von 90° .

Die Messungen wurden bei 6° , 16° und 26°C mit den Wellenlängen $\lambda_1 = 3660 \text{ \AA}$, $\lambda_2 = 4360 \text{ \AA}$ und $\lambda_3 = 5460 \text{ \AA}$ durchgeführt. Um festzustellen, ob während der Messungen Denaturierung stattfindet, wurde mit der niedrigsten Temperatur (6° vor C) begonnen, dann nacheinander 16°C und 26°C . Nachdem bei 26°C gemessen wurde, wurde nochmals auf 6°C umgestellt und bei dieser Temperatur (6° nach C) gemessen. Das wurde bei allen durchgemessenen Konzentrationen so gemacht. Bei der Konzentration $c = 2,352 \text{ [g/L]}$ wurden auch die Messungen bei 16°C in der gleichen Weise wiederholt. Es zeigte sich, dass die Abweichungen zwischen den "vor-" und "nach"-Messungen innerhalb der Fehlergrenze waren, so dass für die weitere Auswertung diese Werte gemittelt werden konnten. Die Ergebnisse der Messungen sind in den Tabellen 25, 26, 27, 28 und 29 zusammengestellt.

Von den insgesamt 63 Messungen wurden für die weitere Auswertung 60 Messungen verwertet. Die verworfenen 3 Werte sind: Bei $c = 0,902$, $\lambda = 5460$, 6_{vor} und 6_{nach} , sowie bei $c = 2,354$, $\lambda = 5460$, 16_{vor} . Diese 3 Werte lagen weit ausserhalb der Fehlergrenze, so dass ihre Abweichungen als zufällig anzusprechen sind.

Die Konzentrationen, deren über der Tabelle stehenden Werte sich auf 20°C beziehen, sind über die Temperaturabhängigkeit von Brechungszinkrement $\frac{dn}{dc}$, Brechungsindex des Lösungsmittels n_1 und partiellem spezifischem Volumen des Proteins $\bar{v}_2$ über die Beziehung für die scheinbare spezifische Refraktion

$$R_2 = \frac{dn}{dc} + (n_1 - 1) \bar{v}_2 \quad (93)$$

auf die Werte für 6° , 16° und 26° umgerechnet worden. Die Temperaturabhängigkeit des partiellen spezifischen Volumens

Tabelle 25

c = 0,900

$t [^{\circ}\text{C}]$	$c [\text{g/L}]$	λ	K 10^7	R_{90} 10^6	$\frac{c}{R_{90}}$	$\frac{K}{R_{90}}$ 10^6	$\frac{K}{R_{90}}$ 10^{-4}
δ_{vor}	0,902	3660	28,5994	702,62	1,284	3,672	8,52
δ_{nach}	0,902	"	28,5994	708,15	1,274	3,644	8,45
16	0,901	"	28,4400	691,39	1,303	3,706	8,83
26	0,899	"	28,2980	698,37	1,287	3,642	9,09
δ_{vor}	0,902	4360	12,8560	310,59	2,904	3,733	8,66
δ_{nach}	0,902	"	12,8560	315,53	2,859	3,676	8,60
16	0,901	"	12,7944	319,03	2,824	3,613	8,68
26	0,899	"	12,7622	321,35	2,798	3,571	8,87
δ_{vor}	0,902	5460	4,8328	110,68	8,150	3,936	9,14
δ_{nach}	0,902	"	4,8328	113,91	7,919	3,825	8,88
16	0,901	"	4,8090	119,24	7,556	3,630	8,73
26	0,899	"	4,7976	118,35	7,596	3,642	9,06

Tabelle 26

c = 2,352

t [°C]	c [g/L]	$[\alpha]$	K 10^7	R_{90} 10^6	$\frac{c}{R_{90}}$	$\frac{K \cdot c}{R_{90}}$ 10^6	$\frac{K \cdot c}{R_{90}}$ RT 10^{-4}
6 _{vor}	2,356	3,660	28,5994	1862,53	1,265	3,618	8,38
6 _{nach}	2,356	"	28,5994	1826,85	1,290	3,689	8,56
16 _{vor}	2,354	"	28,4400	1878,34	1,253	3,564	8,57
16 _{nach}	2,354	"	28,4400	1789,06	1,316	3,743	9,00
26	2,349	"	28,2980	1766,89	1,329	3,761	8,99
6 _{vor}	2,356	4360	12,8560	870,37	2,707	3,479	8,07
6 _{nach}	2,356	"	12,8560	856,92	2,749	3,530	8,19
16 _{vor}	2,354	"	12,7944	883,89	2,663	3,404	8,18
16 _{nach}	2,354	"	12,7944	829,59	2,838	3,627	8,72
26	2,349	"	12,7622	830,44	2,829	3,605	8,97
6 _{vor}	2,356	5460	4,8328	331,01	7,118	3,438	7,98
6 _{nach}	2,356	"	4,8328	325,83	7,231	3,490	8,10
16 _{vor}	2,354	"	4,8090	343,61	6,851	3,298	7,91
16 _{nach}	2,354	"	4,8090	325,49	7,232	3,476	8,36
26	2,349	"	4,7976	316,97	7,411	3,552	8,84

Tabelle 27

c = 5,220

t [°C]	c [g/L]	[λ]	K 10 ⁷	R ₉₀ 10 ⁶	$\frac{c}{R_{90}}$	$\frac{K \cdot c}{R_{90}}$ 10 ⁶	$\frac{K \cdot c \cdot RT}{R_{90}}$ 10 ⁻⁴
6 _{vor}	5,229	3660	28,5994	4042,34	1,294	3,701	8,59
6 _{nach}	5,229	"	28,5994	3984,17	1,312	3,752	8,73
16	5,224	"	28,4400	3910,23	1,336	3,800	9,15
26	5,213	"	28,2980	3952,18	1,319	3,733	9,31
6 _{vor}	5,229	4360	12,8560	1961,26	2,666	3,428	7,96
6 _{nach}	5,229	"	12,8560	1954,75	2,675	3,445	8,00
16	5,224	"	12,7944	1896,99	2,754	3,528	8,48
26	5,213	"	12,7622	1829,61	2,849	3,638	9,05
6 _{vor}	5,229	5460	4,8328	722,75	7,235	3,497	8,12
6 _{nach}	5,229	"	4,8328	781,20	6,694	3,237	7,51
16	5,224	"	4,8090	733,97	7,117	3,423	8,23
26	5,213	"	4,7976	705,70	7,387	3,543	8,81

Tabelle 28
c = 9,444

$t [^{\circ}\text{C}]$	$c [\text{E/L}]$	$[\lambda]$	K 10^7	R_{90} 10^6	$\frac{c}{R_{90}}$	$\frac{K}{c}$ $\frac{c}{R_{90}}$ 10^6	$\frac{K}{c}$ $\frac{c}{R_{90}}$ 10^{-4}
ϵ_{vor}	9,460	3660	28,5994	7690,71	1,230	3,518	8,19
ϵ_{nach}	9,460	"	28,5994	7645,92	1,237	3,538	8,25
16	9,451	"	28,4400	7029,67	1,344	3,822	9,26
26	9,431	"	28,2980	6839,01	1,379	3,902	9,74
ϵ_{vor}	9,460	4360	12,8560	3734,12	2,533	3,253	7,55
ϵ_{nach}	9,460	"	12,8560	3708,79	2,551	3,279	7,61
16	9,451	"	12,7944	3417,10	2,766	3,537	8,50
26	9,431	"	12,7622	3299,06	2,859	3,646	9,07
ϵ_{vor}	9,460	5460	4,8328	1394,15	6,785	3,280	7,61
ϵ_{nach}	9,460	"	4,8328	1350,96	7,002	3,383	7,85
16	9,451	"	4,8090	1219,90	7,747	3,725	8,96
26	9,431	"	4,7976	1186,76	7,947	3,811	9,48

Tabelle 29

$c = 15,072$

t [°C]	c [g/L]	$[\alpha]$	K 10^7	R_{90} 10^6	$\frac{c}{R_{90}}$	$\frac{K \cdot c}{R_{90}}$ 10^6	$\frac{K \cdot c}{R_{90}}$ 10^{-4}
6_{vor}	15,098	3660	28,5994	11027,91	1,369	3,915	9,07
6_{nach}	15,098	"	28,5994	11049,05	1,366	3,907	9,06
16	15,083	"	28,4400	10181,31	1,481	4,212	10,13
26	15,051	"	28,2980	9581,75	1,571	4,446	11,10
6_{vor}	15,098	4360	12,8560	5354,11	2,820	3,621	8,40
6_{nach}	15,098	"	12,8560	5599,77	2,696	3,462	8,04
16	15,083	"	12,7944	5192,88	2,905	3,718	8,94
26	15,051	"	12,7622	4776,40	3,151	4,020	10,00
6_{vor}	15,098	5460	4,8328	2171,80	6,952	3,361	7,80
6_{nach}	15,098	"	4,8328	2034,50	7,421	3,586	8,32
16	15,083	"	4,8090	1941,85	7,767	3,734	8,98
26	15,051	"	4,7976	1749,67	8,602	4,128	10,27

wurde mit Hilfe eines für Proteine allgemein üblichen kubischen Ausdehnungskoeffizienten $\alpha_2 = 3,2 \cdot 10^{-4}$ berechnet. Die so gewonnenen Faktoren, mit denen c_{20} multipliziert werden muss, um die c_6 -, c_{16} - und c_{26} -Werte zu erhalten, sind aus Tabelle 30 ersichtlich.

Tabelle 30

Konzentration	Faktor
c_6	1,00174
c_{16}	1,00074
c_{26}	0,99858

Die Korrektur, die sich eigentlich nur bei den höheren Konzentrationen bemerkbar macht, wurde zwecks Vermeidung eines systematischen Fehlers vorgenommen.

Bei Auftragung der in den Tabellen 25 - 29 aufgeführten $\frac{K}{R_{90}} c$ - Werte gegen die Konzentration ergibt sich Bild 12.

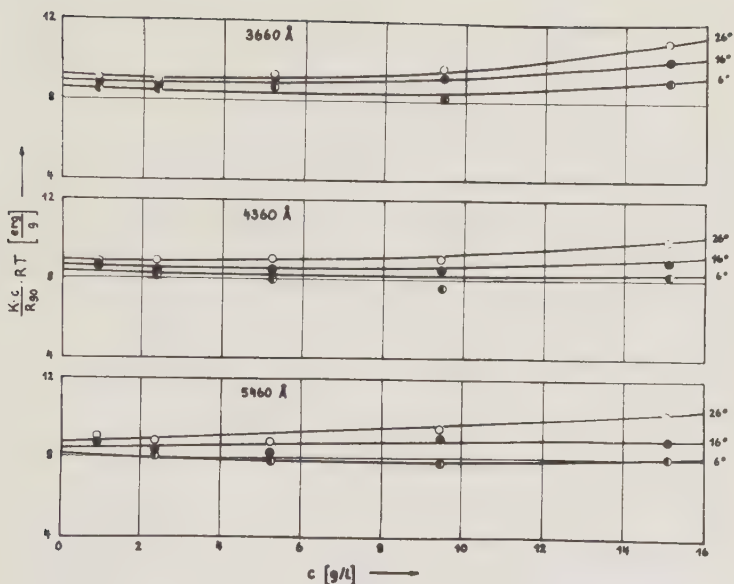


Bild 12. Konzentrationsabhängigkeit der Lichtzerstreuung bei 3 verschiedenen Wellenlängen und den Temperaturen 6°, 16° und 26°C.

Aus der Lage der Messpunkte wurden für die einzelnen Wellenlängen und Temperaturen die aus Tabelle 31 ersichtlichen $\left(\frac{K}{RT} \right)_{c=0}$ - Werte empirisch durch Extrapolation ermittelt.

Tabelle 31

$t [^{\circ}\text{C}]$	$\lambda [\text{\AA}]$	$\left(\frac{K}{R} \frac{c}{RT}\right)_c = 0 \left[\frac{\text{erg}}{\text{g}}\right]$ 10^{-4}
6	3660	8,60
16	"	8,90
26	"	9,20
6	4360	8,36
16	"	8,66
26	"	8,95
6	5460	8,16
16	"	8,45
26	"	8,75

Für die eingezeichneten Kurven sind zunächst nach (68), (68a), (55a) und (55b) die in der Gleichung (58a) vorkommenden B- und C-Werte aus den Messpunkten, sowie den für $c = 0$ extrapolierten Werten der Tabelle 31 berechnet worden. Aus diesen in den Tabellen 32 und 33 zusammengestellten Werten wurden dann die Kurven nach Gleichung (58a) berechnet.

Aus Bild 12 ist ersichtlich, dass die Messpunkte recht gut auf den nach Gleichung (58a) berechneten Kurven liegen. Auch ist eine deutliche Abhängigkeit der Lichtzerstreuung von der Temperatur zu erkennen. Die Wellenlängenabhängigkeit ist zwar in der Tendenz erkenntlich, dürfte jedoch gegenüber der Fehlerbreite zu gering im Effekt sein, um aus den hieraus berechneten ψ - Werten genaue Aussagen über die Moleküldimensionen machen zu können.

Tabelle 32

B-Werte

$$\left[\frac{\text{erg cm}^3}{\text{g}^2} \right]$$

t [°C]	3660 Å	4360 Å	5460 Å
6	-4,08 10 ⁵	-2,10 10 ⁵	-4,55 10 ⁵
16	-1,97 10 ⁵	-3,02 10 ⁵	+2,11 10 ⁵
26	-4,64 10 ⁵	-1,92 10 ⁵	+3,98 10 ⁵

Tabelle 33

C-Werte

$$\left[\frac{\text{erg cm}^6}{\text{g}^3} \right]$$

t [°C]	3660 Å	4360 Å	5460 Å
6	2,51 10 ⁷	0,86 10 ⁷	1,86 10 ⁷
16	2,62 10 ⁷	2,00 10 ⁷	-0,15 10 ⁷
26	4,78 10 ⁷	2,43 10 ⁷	0,55 10 ⁷

c) Winkelabhängigkeit der Lichtzerstreuung.

Die Messung der Winkelabhängigkeit wurde hauptsächlich zur Bestimmung des Z - Wertes durchgeführt. Um einen Überblick über die Asymetrie der Winkelverteilung der Lichtstreuung zu erhalten, wurden nicht nur die Winkel 45° und 135° gemessen, sondern noch 30° , 60° , 75° , 90° , 105° , 120° und 150° . Es wurde bei 16°C und den Wellenlängen $4360 \text{ \AA}$ und $5460 \text{ \AA}$ gemessen. Die Konzentration betrug $4,51 \text{ [g/L]}$. Das Ergebnis der Messungen ist in den Tabellen 34 und 35 zusammengestellt.

Tabelle 34

$$\begin{aligned} \lambda &= 4360 \text{ \AA} & K &= 12,7944 \cdot 10^{-7} \\ c &= 4,51 \text{ [g/L]} & t &= 16^\circ\text{C} \end{aligned}$$

θ	R_θ 10^6	R_θ^{LM} 10^6	R_θ 10^6	$\frac{K \cdot c}{R_\theta}$ 10^6
30°	3849,70	143,90	3705,80	1,5571
45°	3594,73	77,92	3516,81	1,6408
60°	3463,08	44,24	3418,84	1,6878
75°	3362,81	33,02	3329,79	1,7329
90°	3303,36	28,78	3274,58	1,7621
105°	3230,90	27,80	3203,10	1,8015
120°	3183,54	26,71	3156,83	1,8279
135°	3155,43	36,10	3119,33	1,8498
150°	3257,75	143,90	3113,85	1,8531

Tabelle 35

$$\lambda = 5460 \text{ \AA}$$

$$c = 4,51 \text{ [g/L]}$$

$$K = 4,8090 \cdot 10^{-7}$$

$$t = 16^{\circ}\text{C}$$

θ	R_{θ} 10^6	R_{θ}^{LM} 10^6	R_{θ} 10^6	$\frac{K \cdot c}{R_{\theta}}$ 10^6
30°	1314,86	65,84	1249,02	1,7364
45°	1210,84	46,22	1164,62	1,8623
60°	1161,40	28,56	1132,84	1,9145
75°	1130,24	17,68	1112,56	1,9494
90°	1110,63	15,53	1095,10	1,9805
105°	1090,83	13,12	1077,71	2,0125
120°	1078,06	13,56	1064,50	2,0374
135°	1075,93	19,66	1056,27	2,0533
150°	1198,00	65,84	1132,16	1,9157

Aus dem Verhältnis von $\frac{K \cdot c}{R_{\theta}}$ bei 45° und 135° ergeben sich folgende Z - Werte:

$$\text{Für } \lambda = 4360 \text{ \AA} : Z = 1,1274$$

$$\text{" } \lambda = 5461 \text{ \AA} : Z = 1,1026$$

Die Winkelverteilung der Lichtstreuung zeigt keinerlei abnormales Verhalten, was ein Beweis dafür ist, dass die gemessene Lösung optisch rein war.

5.) Auswertung der Messergebnisse.

- a) Das Molekulargewicht und die absoluten Abmessungen des Moleküls.

Dividiert man die in Tabelle 31 aufgeführten $\left(\frac{K}{R_{90}} RT\right)_c = 0$ - Werte durch RT , wobei für T die entsprechende absolute Temperatur für 6° , 16° und $26^\circ C$ (also $279,13^\circ$, $289,13^\circ$ und $299,13^\circ K$) eingesetzt wird, so erhält man $\left(\frac{K}{R_{90}}\right)_c = 0 = \frac{1}{MP(90)}$. Für die drei durchgemessenen Wellenlängen erhält man so

Tabelle 36

λ	$\frac{1}{MP(90)}$
3660	3,70 ₂
4360	3,60 ₁
5460	3,51 ₆

Aus diesen Werten errechnen sich die relativen Streuverhältnisse für die Wellenlängen 5460 λ und 4360 λ , und zwar

$$\text{aus } \frac{P(90)_V}{P(90)_{UV}} \text{ für } 4360 \lambda : 1,028$$

$$\text{aus } \frac{P(90)_G}{P(90)_V} \text{ für } 5460 \lambda : 1,024$$

Für die relativen Streuverhältnisse lassen sich folgende $\frac{1}{P(90)}$ - Werte ermitteln:

$$\text{für } 4360 \lambda : \frac{1}{P(90)} = 1,079$$

$$\text{für } 5460 \lambda : \frac{1}{P(90)} = 1,056$$

Es sei auch an dieser Stelle nochmals darauf hingewiesen, daß

die ψ - Werte und damit auch die $P(90)$ - Werte mit einem grossen Fehler behaftet sind. Aus den Werten in Tabelle 36 und den $P(90)$ - Werten errechnet sich für beide Wellenlängen ein Molekulargewicht von 300 000. Wegen der Unsicherheit der ψ - Werte und den daraus bestimmten $P(90)$ - Werten dürfte eine Bestimmung der $P(90)$ - Werte aus den durch die Winkelabhängigkeit bestimmten Z - Werten sicherer sein. Aus den Z - Werten wurden etwas höhere $\frac{1}{P(90)}$ - Werte gefunden, und zwar

$$\text{für } 4360 \text{ Å} : \frac{1}{P(90)} = 1,089$$

$$\text{für } 5460 \text{ Å} : \frac{1}{P(90)} = 1,093$$

Aus den Werten für 4360 Å ergibt sich ein Molekulargewicht von 303 000 und aus den Werten für 5460 Å ein solches von 310 000; also ein mittleres Molekulargewicht von 307 000. Dieser Wert dürfte dem tatsächlichen Molekulargewicht näher kommen als der Wert von 300 000. Bei der Berechnung der Molekulargewichte wurde in beiden Fällen Stäbchenform des Moleküls vorausgesetzt.

Die Länge L des Moleküls lässt sich sowohl aus ψ als auch aus Z berechnen (Stäbchenform des Moleküls vorausgesetzt). Aus den bereits erwähnten Gründen wurde hier L nur aus dem Z - Wert berechnet. Es ergaben sich folgende Abmessungen:

$$\text{für } 4360 \text{ Å} : Z = 1,1274 : L = 880 \text{ Å}$$

$$\text{für } 5460 \text{ Å} : Z = 1,1026 : L = 990 \text{ Å}$$

Es ergibt sich also als Mittelwert aus der Winkelabhängigkeit für die Länge des Moleküls $L = 950 \text{ Å}$.

b) Die thermodynamischen Exzessgrössen.

Die Berechnung des Zusatzpotentials geht aus Tabelle 37 hervor. Die eingestrichenen Grössen gehören zur niedrigeren Konzentration, die zweigestrichenen zur höheren. Die in Spalte 3 aufgeführten $RT \frac{K}{R_{90}}$ - Werte ergeben sich aus den Mittelwerten der zur niedrigeren und höheren Konzentration gehörenden Werte.

Tabelle 37

c 10^3	$\sigma''-c' = dc$ 10^3	$RT \frac{(\frac{K}{R_{90}})'' + (\frac{K}{R_{90}})'}{2}$	$\bar{V}_1 RT \left(\frac{(\frac{K}{R_{90}})'' + (\frac{K}{R_{90}})'}{2} - \frac{1}{MP(\theta)} \right) = E$ 10^{-4}	E dc	$\int E dc = - \Delta_{\nu 1}^E$
$\bar{\lambda} = 3660 \text{ Å; } 6^\circ\text{C}$					
0					
0,902	0,902	8,55	-0,049	-0,44	-0,44
2,356	1,454	8,48	-0,117	-1,70	-2,14
5,229	2,873	8,57	-0,029	-0,83	-2,97
9,460	4,231	8,44	-0,156	-6,60	-9,57
15,098	5,638	8,65	+0,049	+2,76	-6,81
$\bar{\lambda} = 3660 \text{ Å; } 16^\circ\text{C}$					
0					
0,901	0,901	8,87	-0,029	-0,26	-0,26
2,354	1,453	8,82	-0,078	-1,13	-1,39
5,224	2,870	8,98	+0,078	+2,24	+0,85
9,451	4,227	9,21	+0,302	+12,77	+13,62
15,083	5,632	9,70	+0,778	+43,82	+57,44

Tabelle 37

α 10^3	$\alpha'' - \alpha' = d\alpha$ 10^3	$RT \frac{(\frac{K_0}{R_{90}})'' + (\frac{K_0}{R_{90}})'}{2}$	$\bar{v}_1 RT \left(\frac{(\frac{K_0}{R_{90}})'' + (\frac{K_0}{R_{90}})'}{2} - \frac{1}{MP(\theta)} \right) = E$ 10^{-4}	$E \cdot d\alpha$	$E \cdot d\alpha = - \Delta n_1^E$
$\lambda = 3660 \text{ \AA}; 26^\circ\text{C}$					
0					
0,899	0,899	9,15	-0,049	- 0,44	- 0,44
2,349	1,450	9,04	-0,156	- 2,26	- 2,70
5,213	2,864	9,15	-0,049	- 1,40	- 4,10
9,431	4,218	9,53	+0,322	+13,58	+ 9,48
15,051	5,620	10,42	+1,190	+66,88	+76,36
$\lambda = 4360 \text{ \AA}; 6^\circ\text{C}$					
0					
0,902	0,902	8,50	+0,136	+ 1,23	+ 1,23
2,356	1,454	8,38	+0,019	+ 0,28	+ 1,51
5,229	2,873	8,06	-0,292	- 8,39	- 6,88
9,460	4,231	7,78	-0,564	-23,86	-30,74
15,098	5,638	7,90	-0,447	-25,20	-55,94

Tabelle 37

c 10^3	$c''-c' = dc$ 10^3	$RT \frac{\left(\frac{K}{R_{90}}\right)'' + \left(\frac{K}{R_{90}}\right)'}{2}$	$\frac{\left(\frac{K}{R_{90}}\right)'' + \left(\frac{K}{R_{90}}\right)'}{2} \cdot \frac{1}{10^{-4}}$ $\bar{V}_1 RT \left(\frac{\left(\frac{K}{R_{90}}\right)'' + \left(\frac{K}{R_{90}}\right)'}{2} - \frac{1}{MP(\theta)} \right) = E$	$E \, dc$	$\int E \, dc = - \Delta \chi_1^E$
$\lambda = 4360 \text{ Å; } 16^\circ\text{C}$					
0					
0,901	0,901	8,67	+0,010	+ 0,09	+ 0,09
2,354	1,453	8,57	-0,088	- 1,29	- 1,20
5,224	2,870	8,47	-0,185	- 5,31	- 6,51
9,451	4,227	8,49	-0,165	- 6,97	-13,48
15,083	5,633	8,73	+0,058	+ 3,27	-10,21
$\lambda = 4360 \text{ Å; } 26^\circ\text{C}$					
0					
0,899	0,899	8,91	-0,039	- 0,35	- 0,35
2,349	1,450	8,92	-0,029	- 0,42	- 0,77
5,213	2,864	9,01	-0,039	- 1,12	- 1,89
9,431	4,218	9,06	+0,010	+ 0,42	- 1,47
15,051	5,620	9,47	+0,507	+28,49	+27,02

Tabelle 37

c 10^3	$\alpha'' - c' = dc$ 10^3	$RT \frac{(\frac{K}{R_{90}})'' + (\frac{K}{R_{90}})'}{2}$	$\bar{V}_1 RT (\frac{(\frac{K}{R_{90}})'' + (\frac{K}{R_{90}})'}{2} - \frac{1}{MP(\theta)}) = E$ 10^{-4}	$E \, dc$	$E \, dc = -\Delta u_1^E$
$\lambda = 5460 \text{ Å; } 6^\circ\text{C}$					
0					
2,356	2,356	8,10	-0,058	-1,37	-1,37
5,229	2,873	7,93	-0,224	-6,44	-7,81
9,460	4,231	7,75	-0,398	-16,84	-24,65
15,098	5,638	7,90	-0,253	-14,26	-38,91
$\lambda = 5460 \text{ Å; } 16^\circ\text{C}$					
0					
0,901	0,901	8,59	+0,136	+1,23	+1,23
2,354	1,453	8,55	+0,097	+1,41	+2,64
5,224	2,870	8,30	-0,146	-4,19	-1,55
9,451	4,227	8,60	+0,146	+6,17	+4,62
15,083	5,632	8,97	+0,506	+28,50	+33,12

Tabelle 37

c 10^3	$c''-c' = \Delta c$ 10^3	$RT \frac{(\frac{K}{R_{90}})'' + (\frac{K}{R_{90}})'}{2}$	$\frac{(\frac{K}{R_{90}})'' + (\frac{K}{R_{90}})'}{2} \cdot \frac{1}{\bar{V}_1 RT} - \frac{1}{MP(\theta)} = E$ 10^{-4}	$E \Delta c$	$E \Delta c = \frac{\Delta \mu_1^E}{\bar{V}_1}$
0			$\lambda = 5460 \text{ Å; } 26^\circ\text{C}$		
0,899	0,899	8,91		+1,40	+1,40
2,349	1,450	8,95		+2,83	+4,23
5,213	2,864	8,83		+2,23	+6,46
9,431	4,218	9,15		+16,45	+22,91
15,051	5,620	9,88		+61,93	+84,84

Das partielle spezifische Volumen des Lösungsmittels, welches man in 1. Näherung der reziproken Dichte des Lösungsmittels gleich setzen kann, ist aus dem Wert für 20°C für die Temperaturen 6°, 16° und 26° korrigiert worden. Die Korrektur konnte aus dem Gang der Dichteänderung des Wassers mit der Temperatur, welche der Literatur (131) entnommen wurde, berechnet werden. Die Werte sind in Tabelle 38 zusammengestellt.

Tabelle 38

t °C	$\bar{v}_1$
6	0,97193
16	0,97290
20	0,99820
26	0,97501

Da die nach Gleichung (87) berechneten Δ/u_1^E - Werte von der Wellenlänge unabhängig sind, können die bei den 3 Wellenlängen bestimmten Δ/u_1^E - Werte für jede Temperatur und Konzentration gemittelt werden. In Tabelle 39 sind die Mittelwerte $\overline{\Delta/u_1^E}$ zusammengestellt.

Tabelle 39

6°C		16°C		26°C	
c 10 ³	$\overline{\Delta/u_1^E}$	c 10 ³	$\overline{\Delta/u_1^E}$	c 10 ³	$\overline{\Delta/u_1^E}$
0,902	- 0,40	0,901	- 0,35	0,899	- 0,20
2,356	+ 0,67	2,354	- 0,02	2,349	- 0,25
5,229	+ 5,89	5,224	+ 2,40	5,213	- 0,16
9,460	+21,65	9,451	- 1,59	9,431	-10,31
15,098	+33,89	15,083	-26,78	15,051	-62,74

Mit diesen $\overline{\Delta u_1^E}$ - Werten kann nun unmittelbar in die Beziehung (77a) eingegangen werden, wodurch man $-\Delta h_1 = -\Delta h_1^E$ für die mittleren Temperaturen von 11° und 21°C erhält. Da innerhalb dieser Temperaturdifferenz noch keine eindeutige Temperaturabhängigkeit ersichtlich ist, ist es zweckmässig, die für 11° und 21°C erhaltenen Δh_1^E - Werte zu mitteln und den Mittelwert $\overline{\Delta h_1}$ auf 16°C zu beziehen. Die Enthalpie ist allgemein dem Quadrat der Konzentration proportional. Es gilt die Beziehung:

$$\Delta h_1 = k c^2 \quad (94)$$

Aus der Konzentrationsabhängigkeit von Δh_1 lässt sich daher die Konstante k bestimmen. In Tabelle 40 sind Δh_1 , $\overline{\Delta h_1}$ und k zusammengestellt. Für die Konzentrationen von 11° und 21°C sind jeweils die Mittelwerte angegeben.

Tabelle 40

11°C		21°C		16°C			
c [g/L] 10 ³	Δh_1	c [g/L] 10 ³	Δh_1	c [g/L] 10 ³	c ² 10 ⁶	$\overline{\Delta h_1}$	k 10 ⁻⁶
2,355	+ 19,93	2,352	+ 6,66	2,354	5,541	+ 13,30	+2,40
5,227	+ 10,33	5,219	+ 76,37	5,224	27,290	+ 43,35	+1,59
9,456	+ 670,33	9,441	+ 250,56	9,451	89,321	+ 460,45	+5,16
15,091	+1727,30	15,067	+1297,35	15,083	227,497	+1512,33	+6,65

Will man aus der Enthalpie und dem Zusatzpotential die (mit T behaftete) Zusatzentropie berechnen, so verwendet man hierzu zweckmässig nicht unmittelbar den $\overline{\Delta u_1^E}$ - Wert für 16°C, son-

dern mittelt so, dass man $\overline{\overline{\Delta/u_1^E}}$ - Werte für 11° und 21°C erhält, aus denen man dann wiederum durch Mittelung den $\overline{\overline{\Delta/u_1^E}}$ - Wert für 16°C erhält. Die Art der Mittelung für $\overline{\overline{\Delta/u_1^E}}$ geht aus Tabelle 41 hervor.

Tabelle 41

c	$\overline{\Delta/u_1^E}$	$\overline{\Delta/u_1^E}$	$\overline{\Delta/u_1^E}$	$\overline{\overline{\Delta/u_1^E}}$	$\overline{\overline{\Delta/u_1^E}}$	$\overline{\overline{\Delta/u_1^E}}$
[g/L]	6°	16°	26°	11°	21°	16°
2,354	+ 0,67	- 0,02	- 0,25	+ 0,33	- 0,27	+ 0,03
5,224	+ 5,89	+ 2,40	- 0,16	+ 4,15	+ 1,12	+ 2,64
9,451	+21,65	- 1,59	-10,31	+10,03	- 5,95	+ 4,08
15,083	+33,89	-26,78	-62,74	+ 3,55	-44,76	-20,61

Für $T \Delta s_1^E$ erhält man dann über Gleichung (81) die in Tabelle 42 zugleich mit $\overline{\Delta h_1^E}$ und $\overline{\overline{\Delta/u_1^E}}$ zusammengestellten Werte.

Tabelle 42a

t = 16°C				
c	Δ/u_1	$\overline{\overline{\Delta/u_1^E}}$	$\overline{\Delta h_1}$	$T \Delta s_1^E$
[g/L]	[erg/g]	[erg/g]	[erg/g]	[erg/g]
2,354	- 183,52	+ 0,03	+ 13,30	+ 13,27
5,224	- 404,69	+ 2,64	+ 43,35	+ 40,71
9,451	- 732,83	+ 4,08	+ 460,45	+ 456,37
15,083	-1196,66	-20,61	+1512,33	+1532,94

Tabelle 42b

$t = 16^{\circ}\text{C}$				
c [g/L]	Δu_1 [cal/g] 10^8	$\overline{\overline{\Delta u_1^E}}$ [cal/g] 10^8	$\overline{\Delta h_1}$ [cal/g] 10^8	$T \Delta s_1^E$ [cal/g] 10^8
2,354	- 438,43	+ 0,07	+ 31,77	+ 31,70
5,224	- 966,80	+ 6,31	+ 103,56	+ 97,26
9,451	-1750,73	+ 9,75	+1100,02	+1090,27
15,083	-2858,82	- 49,24	+3612,96	+3662,19

V. Elektronenmikroskopie.

1.) Das Elektronenmikroskop.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde das "AEG-Zeiss-Elektronenmikroskop EM 8" nach Mahl verwendet (132, 133, 134, 135, 136). Es ist dies ein elektrostatisches Elektronenmikroskop, welches durch seine elektrostatischen Linsen in 8 verschiedenen Vergrößerungsstufen 200- bis 15 000-fache Vergrößerung des zu untersuchenden Objektes gestattet. Mit einer zusätzlichen Projektionslinse kann eine Vergrößerung von 25 000-fach erreicht werden. Mit Hilfe eines Lichtmikroskopes kann das auf einem Zinksulfid-Schirm sichtbar gemachte elektronen-optische Bild nachvergrößert werden, wobei die Grenzvergrößerungen 300 000- bzw. 500 000-fach sind. Die Hochspannung von 60 KV für die Beschleunigung der Elektronen wird durch einen Hochfrequenz-Generator erzeugt. Für die Beobachtung dicker Objekte ist eine Spannung von 100 KV, die ein Zwischen-Beschleuniger liefert, vorgesehen. Als Mehrzweckgerät hat das Elektronenmikroskop ausserdem eine Elektronen-Beugungs-Einrichtung, die eine direkte Umschaltung von Abbildung auf Beugung gestattet. Für die photographische Aufnahme der Bilder besitzt das Mikroskop ein Schleusen-System, welches das Ausschleusen belichteter Platten aus dem Hochvakuum innerhalb von 10 Sekunden gestattet. Die Vorratskassette innerhalb der Schleuse nimmt 24 Platten im Format 6 x 9 cm auf, so dass man während der Untersuchung eines Objektes genügend Aufnahmen machen kann, ohne Plattenwechsel vornehmen zu müssen. Auch die Objekte sind über ein Schleusensystem innerhalb von 20 Sekunden auswechselbar.

2.) Die Aufdampfapparatur.

Für die Bedampfung der Objekte diente eine von der Firma Zeiss selbst gebaute Hochvakuum-Bedampfungsapparatur. Der Arbeitsdruck der Anlage ist etwa 10^{-5} mm Hg und wird mittels Öldiffusionspumpe und rotierender Vorpumpe erzeugt. Zum Schutz gegen Luftein-

brüche sind automatische Sicherheitsventile eingebaut. Mittels hochvakuumdichter Stromdurchführungen wird ein hochamperiger Strom mit einer Spannung von etwa 6 Volt wahlweise an die Enden eines Wolframdrahtes oder Wolfram-Schiffchens geleitet, welche das Verdampfungsgut in Form von Draht oder Pulver aufzunehmen gestatten. Die Objekte können unter verschiedenen Winkeln und Entfernungen bedampft werden. Auch kann die Bedampfungszeit beliebig variiert werden. Die Anlage ist ausserdem mit zwei Kohleelektroden-Aufnehmern ausgerüstet, so dass auch Kohlebedampfungen vorgenommen werden können.

3.) Die Objektträger.

Als Objektträger dienten dünnste Folien, die auf einem feinmaschigen Drahtnetz mit Maschenweite von einigen μ aufliegen. Für die ersten Versuche wurden "Formvar"-Filme verwendet. Diese erhält man durch Aufstreichen einer sogenannten Formvar-Lösung auf gut gereinigte Glasplättchen. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels taucht man die so präparierten Glasplättchen in destilliertes Wasser, wodurch sich die dünne Formvarhaut ablöst und wegen der schlechten Benetzbarkeit als dünner Film in Bruchstücken auf der Wasseroberfläche schwimmt. Die kleinen Stückchen können dann von den mit der Pinzette gehaltenen Objektdrahtnetzen "aufgefischt" werden. Es zeigte sich, dass die Formvar-Objektträger während der Beobachtung im Elektronenmikroskop sehr schnell rissig wurden, wodurch - da es Mikrorisse sind, die vergleichbare Dimensionen mit den Abmessungen des Fibrinogenmoleküls haben - leicht das Vorhandensein von Fibrinogenmolekülen vorgetäuscht wird. Einige Beispiele hierfür seien in den Bildern 13, 14, 15 und 16 gegeben. Aus diesem Grunde wurden alle weiteren Untersuchungen mit Kohlefolien als Objektträger durchgeführt. Diese haben ausserdem den grossen Vorteil, bei richtiger Herstellung gegenüber dem zu beobachtenden Objekt kaum eine Eigenstruktur zu besitzen, wie es die Bilder 17 und 18, die Aufnahmen von Leerfolien sind, beweisen. Man erhält die Kohlefolien, indem man einen grossen Natriumkristall (Kantenlänge des Würfels etwa 2 cm) im



Bild 13. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Fibrinogen, Probe S - 54 - 834, mit typischen Filmrissen. Vergrößerung 25 000.



Bild 14. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Fibrinogen, Probe S - 54 - 836, mit typischen Filmrissen. Vergrößerung 25 000.



Bild 19. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Fibrinogen, Probe S - 54 - 837, mit typischen Filmrissen. Vergrößerung 25 000.

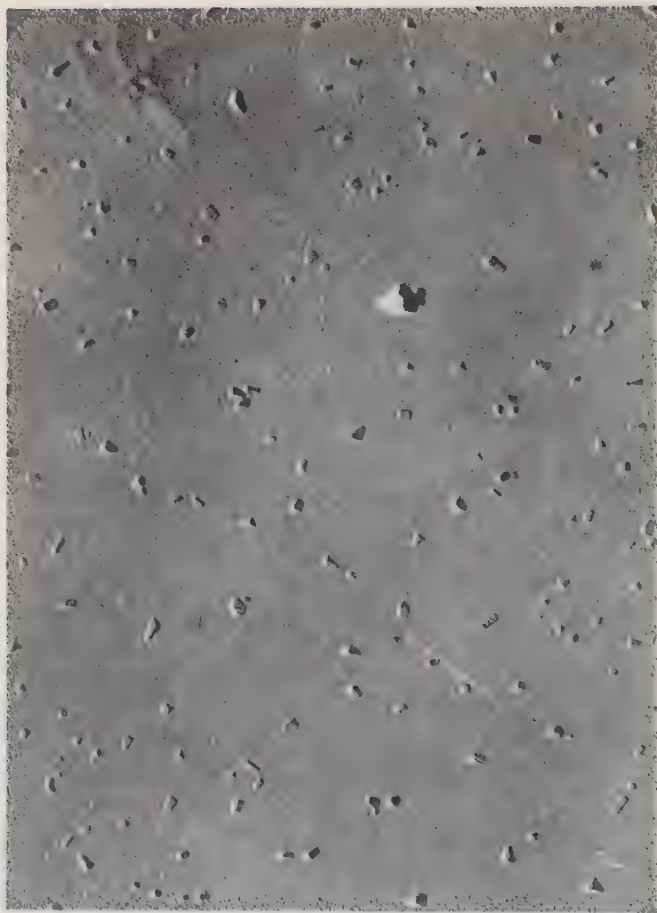


Bild 16. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Fibrinogen mit NaCl-Kristallen, Probe S - 54 - 841, mit feinsten Filmrissen. Vergrößerung 25 000.



Bild 17. Elektronenmikroskopische Aufnahme von
Leerfolie, Probe S - 54 - 831. Ver-
größerung 25 000.



Bild 18. Elektronenmikroskopische Aufnahme von
Leerfolie, Probe S - 54 - 832. Ver-
größerung 25 000.

Hochvakuum mit einem Kohlelichtbogen ca. 30 Sekunden bedampft. Die sich hierbei auf dem Kristall gebildete Kohlefolie lässt sich leicht in destilliertem Wasser ablösen und wie beschrieben auf die Trägernetze bringen.

4.) Die Versuchsbedingungen.

In Vorversuchen wurden die Versuchsbedingungen weitgehend variiert. Die Variationsbreiten sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 43

Nr.	Art	Variationsbreite
1.)	Konzentration	0,1 - 0,0001 % mit und ohne NaCl Zusatz
2.)	Objektträger	Formvar, Kohle
3.)	Bedampfungsma- terial	Platin, Palladium, Wolfram- oxyd, Siliziumdioxyd, Kohle
4.)	Bedampfungswinkel	25 - 40°
5.)	Bedampfungszeit	2 - 10 sec.

Es zeigte sich, dass die besten Ergebnisse erzielt wurden, wenn man von einer 0,001 %-igen Lösung von Fibrinogen in destilliertem Wasser ausgeht. Von dieser Lösung bringt man mittels vorher geglühter Platinöse einen winzigen Tropfen auf einen Kohlefolien-Objektträger, lässt diesen unter einer Glasschale etwa 30 min. trocknen und bedampft im Hochvakuum mit Platin 4 Sekunden unter einem Winkel von 30°.

5.) Die Auswertung der Aufnahmen.

Von den zahlreichen gemachten Aufnahmen sei Bild 19 als Beispiel gebracht ³⁾. Die Gesamtvergrößerung ist hier 30 000. Die Fibri-



Bild 19. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Fibrinogen, Probe S - 54 - 844, ohne Filmrisse auf Kohlefolie. Vergrößerung 30 000. Ein Abzug dieser Aufnahme mit einer Endvergrößerung von 40 000 kam für die Auswertung zur Verwendung.

nogenmoleküle sind deutlich als kleine Stäbchen zu erkennen. Viele der Stäbchen sind auch etwas gekrümmt, was auf eine Flexibilität der Moleküle schliessen lässt. Die Länge der Moleküle ist auf dem Bild nicht einheitlich. Dass es sich um eine echte "Uneinheitlichkeit" hierbei handelt, ist nicht anzunehmen, denn die Präparationsbedingungen für die Herstellung der Objekte waren sehr rauh ⁴⁾. Man erkennt auf dem Bild auch einige überdimensional lange Moleküle, wobei es sich wohl zum grössten Teil um zwei Moleküle handelt, die zufällig hintereinander liegen.

Bei der Auswertung wurde so vorgegangen, dass die innerhalb eines Quadrates von etwa 10.10 cm sichtbaren Teilchen ausgemessen und gezählt wurden. Hierfür wurde jedoch eine Aufnahme mit einer Endvergrösserung von 40 000 verwendet. Auf der Fläche von 10 cm² wurden insgesamt 530 Teilchen ausgemessen. Das Ergebnis der Auswertung ist aus den Abbildungen 20a und b ersichtlich. In Bild 20a sind alle Teilchen von 0 - 99, 100 - 199, 200 - 299 Å usw. bis 1199 Å Länge aufgetragen, während in Abbildung 20b alle Teilchen von 50 - 149, 150 - 249, 250 - 349 usw. bis 1249 Å Länge aufgetragen sind. Aus den beiden Darstellungen ergibt sich, dass man besonders viele Teilchen in den Bereichen zwischen 200 - 250 Å, 400 - 450 Å, 650 - 750 Å und 950 - 1000 Å findet. Am stärksten ist das Maximum zwischen 200 - 250 Å und am schwächsten das zwischen 950 und 1000 Å. Man findet, wie ebenfalls aus den Bildern ersichtlich, auch Teilchen ausserhalb der erwähnten Längenbereiche. Wenn man annimmt, dass die Maxima in den genannten Längenbereichen reell sind, dann liegt die Vermutung nahe, dass das Fibrinogen während der Herstellung der Präparate für die Elektronenmikroskopie denaturiert wurde. Wahrscheinlich hat das Grundmolekül eine Länge von etwa 1000 Å und besitzt "Lockerstellen" in Perioden von etwa 250 Å. An diesen "Lockerstellen" setzt offenbar die Denaturierung ein, so dass Bruchstücke von etwa 250 Å, 500 Å und 750 Å entstehen. Sicher geht die Denaturierung, wenn man die Denaturierungsbedingungen verschärft, dann noch weiter, was aber mit dem Elektronenmikroskop nicht mehr nachgewiesen werden kann.

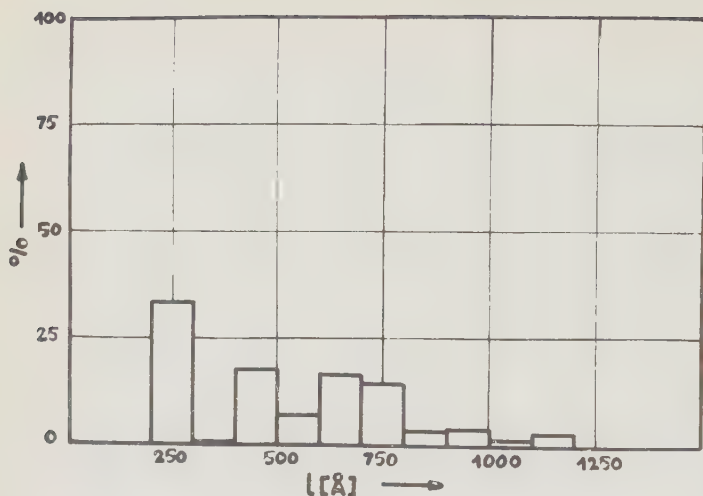


Bild 20a. Prozentuale Längenverteilung der Fibrinogenmoleküle. Zählintervalle von 0 - 99, 100 - 199, 200 - 299 Å usw.

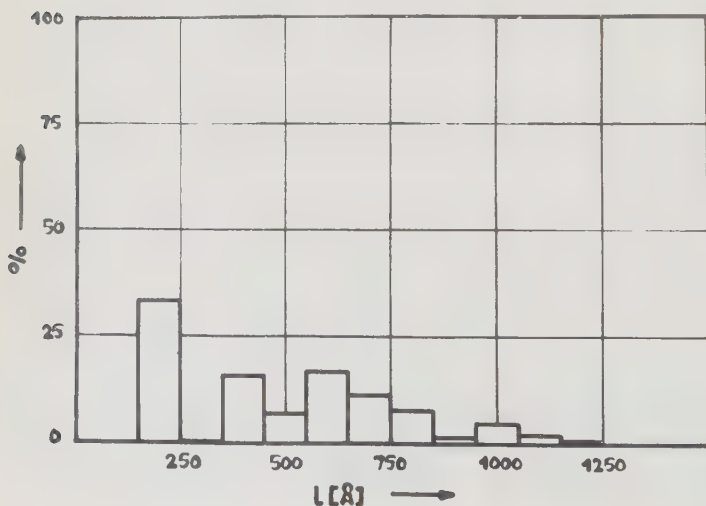


Bild 20b. Prozentuale Längenverteilung der Fibrinogenmoleküle. Zählintervalle von 50 - 149, 150 - 249, 250 - 349 Å usw.

Es muss bemerkt werden, dass die Messungen beträchtliche Fehler haben, und dass die sichtbaren Teilchen nicht unbedingt in horizontaler Lage auf der Papierebene liegen müssen. Da die Scharfeinstellung des Mikroskopes nur eine sehr dünne Ebene erfasst (etwa 20 Å), erscheinen verkantet liegende Moleküle als kleinere Teilchen wie sie in Wirklichkeit sind. Man bekommt daher bei der Auswertung der elektronenmikroskopischen Aufnahme ein "Spektrum" mit allen möglichen Längen. Zahlenmässig bekommt man allerdings Maxima an den in den Bildern 20a und b sichtbaren Stellen. Die Dicke des Fibrinogenmoleküls kann aus den elektronenmikroskopischen Aufnahmen auf ca. 40 - 50 Å geschätzt werden.

VI. Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit werden Messungen an Fibrinogen beschrieben. Zunächst werden die molekularen Daten des Moleküls mittels Sedimentation und Diffusion, sowie Lichtzerstreuung bestimmt. Die Messungen werden bei verschiedenen Konzentrationen durchgeführt, wodurch saubere Extrapolationswerte der Messgrößen für c gegen Null erhalten werden. Die Konzentrationsabhängigkeit der Sedimentations- und Diffusions-Konstanten wird bei drei verschiedenen p_H -Werten, nämlich $p_H = 5,57$, $p_H = 6,66$ und $p_H = 7,66$, durchgeführt. Es zeigt sich, dass die molekularen Daten innerhalb der Fehlergrenze p_H -unabhängig sind. Wohl aber sind die K_S - und K_D -Werte vom p_H -Wert der Lösung abhängig; damit ist auch der B -Wert p_H -abhängig. Die Messungen werden jedoch bei nur einer Ionenstärke durchgeführt. Aus den Sedimentations- und Diffusionsmessungen werden für die drei verschiedenen p_H -Werte folgende Molekulargewichte erhalten:

p_H 5,57 :	367 000
p_H 6,66 :	376 000
p_H 7,66 :	310 000

Die Lichtzerstreuung liefert ein Molekulargewicht, welches (für einen p_H -Wert von 6,66) bei 305 000 liegt. Die Diskrepanz zwischen dem Wert aus Sedimentations- und Diffusionsmessungen einerseits und dem Wert aus Lichtzerstreuungsmessungen andererseits liegt vielleicht daran, dass die Lichtzerstreuungsapparatur mit der Lösung eines polymolekularen Stoffes (benzolische Polystyrollösung) geeicht worden ist. Da anzunehmen ist, dass das Fibrinogen einheitlich ist, dürften andere Werte aus Lichtzerstreuungsmessungen zu erwarten sein, wenn die Apparatur mit einheitlichen Stoffen geeicht wird. Diese Annahme wird dadurch erhärtet, dass die aus Sedimentations- und Diffusionsmessungen erhaltenen Längen des Moleküls im Mittel mit denen aus der Lichtzerstreuung erhaltenen Werte, deren Bestimmung von der Eichmethode unabhängig ist, gut übereinstimmen. Aus dem Reibungsverhältnis sowohl als aus der Unsymmetrie werden 950 Å für die Länge des Moleküls erhalten. Die Frage, ob die Eichung den Unterschied im Molekularge-

wicht bewirkt, sollte zweckmässig anhand eines anderen einheitlichen Proteins geprüft werden. So könnte man z. B. einmal das Molekulargewicht des Albumins, welches man in sehr reiner Form gewinnen kann, mittels Sedimentation und Diffusion und der Lichtzerstreuung bestimmen. Ergibt sich ein ähnlicher prozentualer Unterschied im Molekulargewicht, so müsste man die Lichtzerstreuung für Molekulargewichtsbestimmungen an Proteinen mit einheitlichen Substanzen eichen. Elektronenmikroskopische Untersuchungen, welche ebenfalls einen Teil dieser Arbeit bilden, machen eine Länge von 1000 Å für das Fibrinogenmolekül für wahrscheinlich. Die Auswertung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigt jedoch, dass die Präparation der Objekte äusserst vorsichtig vorgenommen werden muss; andernfalls treten schnell Denaturierungserscheinungen auf. In unserem Fall waren die Bedingungen für die Präparation der Objekte so schlecht, dass bereits ~80 % der ursprünglich nicht denaturierten Moleküle denaturiert waren. Die Auswertung zeigt, dass die Denaturierung offenbar schrittweise so vor sich geht, dass das Molekül entweder Bruchstücke von etwa 250 Å abspaltet oder in zwei gleiche Hälften von je 500 Å zerfällt. Es sieht daher so aus, dass sich "Lockerstellen" in periodischer Folge von 250 Å im Molekül befinden. Weitere elektronenmikroskopische Untersuchungen würden sich sicher lohnen.

Zwecks Bestimmung der thermodynamischen Zusatzfunktionen wurde die Temperaturabhängigkeit der Lichtzerstreuung bestimmt. Die Messungen, die auf eine Temperatur von 16°C bezogen sind, zeigen, dass sich das Zusatzpotential Δu_1^E , welches annähernd Null ist, eindeutig in endliche Grössen von Enthalpie Δh_1 und Zusatzentropie Δs_1^E aufspalten lässt. Das ist jedoch ein Beweis dafür, dass die vorliegende Fibrinogenlösung im Bereich von etwa 16°C pseudoidealer Natur ist.

Weitere Messungen an Fibrinogenlösungen sollten darauf ausgerichtet sein, im Bereich niedrigerer Ionenstärken die p_H - und Ionenstärken-Abhängigkeit der B- (und evtl. C-) Werte aus Lichtzerstreuungsmessungen zu bestimmen. Wie Edsall und Mitarbeiter (139) am Beispiel des Serum-Albumins zeigten, lassen sich durch solche Messungen Aussagen über den in den Theorien von Scatchard und Mitarbeiter (140, 141), Zernike (142), Brinkman und Hermans (143), Kirkwood und Goldberg (144), sowie von Stockmayer (145) vorkommenden Term β_{22} des B-Wertes machen, was für die thermodynamische Behandlung von Proteinlösungen wichtig sein dürfte.

VII. Anmerkungen.

- 1.) Der Fa. Zeiss sei an dieser Stelle für ihr grosszügiges Entgegenkommen, die elektronenmikroskopischen Untersuchungen in ihrem Gastlabor durchführen zu können, herzlich gedankt.
- 2.) Der Kühlthermostat wurde nach Angaben unseres Betriebsassistenten, Herrn F. Bornemann, gebaut.
- 3.) Für die technische Durchführung der Herstellung der Aufnahmen möchte ich Herrn Dipl.-Ing. Schleich herzlich danken.
- 4.) Das Gastlaboratorium der Fa. Zeiss war nicht für die Präparation von empfindlichen Naturstoffen eingerichtet, da dort meistens mit unempfindlichen Substanzen gearbeitet wird. Für eine sorgfältige elektronenmikroskopische Untersuchung an Fibrinogen müssen natürlich alle technischen Hilfsmittel, wie Kühlraum, Kühlzentrifugen, steriles destilliertes Wasser zum Spülen der Behälter usw., vorhanden sein, was man begreiflicherweise von einem Gastlabor nicht verlangen kann.

VIII. Anhang.

1.) Herstellungsbedingungen und Messwerte für den Veronal-Na-Na-Acetat-NaCl-Puffer. Folgende Vorratslösungen werden gebraucht:

a) Veronalnatrium-Natriumacetat-Lösung:

194,28 g Natriumacetat p.a. (E. Merck)

+) 294,28 g Diäthylbarbitursaures Natrium DAB.6. (E. Merck)
mit bidestilliertem Wasser auf 10 000 ccm auffüllen.

b) 4 verschiedene Natriumchlorid-Lösungen:

Für

$T/2 = 0,1$	:	197,25 g NaCl p.a. (E. Merck)	} mit bi- destillier- tem Wasser auf 5 000 ccm auf- füllen
$T/2 = 0,15$	:	394,50 g " " "	
$T/2 = 0,2$	:	591,75 g " " "	
$T/2 = 0,3$	:	986,25 g " " "	

c) $\frac{1}{10}$ n Salzsäure p.a. (E. Merck).

d) Bidestilliertes Wasser.

Für 108 ccm fertigen Puffer sind erforderlich:

20 ccm unter a) beschriebene Veronal-Na-Na-Acetat-Lö-
sung.

+) 8 ccm unter b) beschriebene NaCl-Lösung.

Konzentration je nach gewünschter Ionenstärke.

+) x ccm $\frac{1}{10}$ n HCl.

+) y ccm bidestilliertes Wasser.

Tabelle 4

Nr.	ccm 1/10 n HCl	ccm H ₂ O	p _H für			
	x	y	T/2 = 0,1	T/2 = 0,15	T/2 = 0,2	T/2 = 0,3
1	0,0	80,0	9,51	9,20	9,21	8,87
2	1,0	79,0	8,99	8,90	8,90	8,70
3	2,0	78,0	8,70	8,69	8,71	8,59
4	3,0	77,0	8,51	8,57	8,57	8,43
5	4,0	76,0	8,41	8,42	8,45	8,34
6	8,0	72,0	8,11	8,09	8,09	8,01
7	12,0	68,0	7,84	7,84	7,87	7,78
8	16,0	64,0	7,60	7,68	7,69	7,60
9	20,0	60,0	7,31	7,40	7,42	7,36
10	22,0	58,0	7,17	7,28	7,28	7,18
11	24,0	56,0	6,95	7,00	7,03	6,96
12	26,0	54,0	6,65	6,72	6,73	6,66
13	28,0	52,0	6,12	6,15	6,17	5,68
14	32,0	48,0	5,20	5,31	5,35	5,27
15	36,0	44,0	4,85	4,99	4,99	4,90
16	40,0	40,0	4,56	4,67	4,68	4,61
17	44,0	36,0	4,33	4,44	4,45	4,37
18	48,0	32,0	4,11	4,10	4,20	4,10
19	52,0	28,0	3,76	3,80	3,84	3,76
20	56,0	24,0	3,21	3,29	3,28	3,18
21	60,0	20,0	2,44	2,44	2,44	2,43
22	64,0	16,0	2,16	2,22	2,24	2,15

2.) Herstellungsbedingungen und Messwerte für den Kalimphosphatpuffer.

Folgende Vorratslösungen werden gebraucht:

- a) 1,5 m Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung
408,270 g Kaliumdihydrogenphosphat nach Sörensen (E. Merck)
mit bidestilliertem Wasser auf 2 000 ccm auffüllen.
- b) 2 n Kaliumhydroxyd-Lösung
260,976 g Kaliumhydroxyd p.a. (E. Merck)
mit bidestilliertem Wasser auf 2 000 ccm auffüllen.
Dann mit $\frac{1}{10}$ n HCl (mit Methylorange als Indikator) genau einstellen!
- c) Bidestilliertes Wasser

Für die Herstellung des Puffers werden x ccm unter a) beschriebene 1,5 m Kaliumdihydrogenphosphat-Lösung und y ccm unter b) beschriebene 2 n Kaliumhydroxyd-Lösung im 1 000 ccm Messkolben zusammengegeben bis zur Messmarke mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt.

Tabelle 5

Molenbruch	$T/2 = 0,1$			$T/2 = 0,2$			$T/2 = 0,3$		
	p_H	x	y	p_H	x	y	p_H	x	y
0,1	5,86	55,55	4,17	5,75	111,11	8,33	5,68	166,67	12,50
0,2	6,22	47,62	7,14	6,13	95,24	14,29	6,07	142,86	21,43
0,3	6,46	41,67	9,38	6,38	83,33	18,75	6,32	125,00	28,13
0,4	6,66	37,04	11,11	6,58	74,07	22,22	6,53	111,11	33,33
0,5	6,84	33,33	12,50	6,77	66,67	25,00	6,72	100,00	37,50
0,6	7,02	30,30	13,64	6,95	60,60	27,27	6,90	90,90	40,91
0,7	7,21	27,78	14,58	7,14	55,55	29,16	7,10	83,33	43,75
0,8	7,45	25,64	15,38	7,30	51,28	30,77	7,34	76,92	46,15
0,9	7,80	23,81	16,07	7,74	47,61	32,14	7,70	71,42	48,21

Molenbruch	$T/2 = 0,4$			$T/2 = 0,5$			$T/2 = 0,6$		
	p_H	x	y	p_H	x	y	p_H	x	y
0,1	5,62	222,22	16,67	5,57	277,78	20,83	5,52	333,34	25,00
0,2	6,02	190,48	28,57	5,97	238,90	35,72	5,94	285,72	42,86
0,3	6,28	166,67	37,50	6,34	208,33	46,88	6,21	250,00	56,25
0,4	6,49	148,15	44,44	6,46	185,19	55,56	6,44	222,22	66,66
0,5	6,69	133,33	50,00	6,66	166,67	62,50	6,64	200,00	75,00
0,6	6,87	121,20	54,54	6,85	151,50	68,18	6,83	181,80	81,81
0,7	7,07	111,11	58,33	7,05	138,89	72,12	7,04	166,67	87,50
0,8	7,32	102,56	61,54	7,30	128,20	76,92	7,28	153,84	92,30
0,9	7,68	95,23	64,28	7,66	119,03	80,35	7,65	142,84	96,42

Tabelle 5

Molenbruch	$T/2 = 0,7$			$T/2 = 0,8$			$T/2 = 0,9$		
	p_H	x	y	p_H	x	y	p_H	x	y
0,1	5,47	388,89	29,17	5,43	444,45	33,33	5,39	500,00	37,50
0,2	5,90	333,34	50,00	5,87	380,96	57,14	5,85	428,58	64,29
0,3	6,19	291,67	65,63	6,16	333,34	75,00	6,14	375,00	84,38
0,4	6,42	259,26	77,78	6,40	296,29	88,88	6,39	333,34	100,00
0,5	6,62	233,33	87,50	6,61	266,67	100,00	6,60	300,00	112,50
0,6	6,82	212,10	95,45	6,81	242,40	109,08	6,80	272,70	122,72
0,7	7,03	194,45	102,08	7,02	222,22	116,67	7,01	250,00	131,25
0,8	7,28	179,48	107,69	7,27	205,12	123,07	7,27	230,76	138,46
0,9	7,64	166,65	112,49	7,64	190,45	128,56	7,64	214,26	144,63

Molenbruch	$T/2 = 1,0$			$T/2 = 1,1$			$T/2 = 1,2$		
	p_H	x	y	p_H	x	y	p_H	x	y
0,1	5,36	555,56	41,67	5,32	611,12	45,83	5,28	666,67	50,00
0,2	5,82	476,20	71,43	5,79	523,82	78,57	5,77	571,44	57,14
0,3	6,12	416,67	93,75	6,10	458,34	103,13	6,09	500,00	112,50
0,4	6,37	370,37	111,11	6,36	407,41	122,22	6,35	444,45	133,33
0,5	6,59	333,33	125,00	6,58	366,67	137,50	6,57	400,00	150,00
0,6	6,80	303,00	136,35	6,62	333,34	150,00	6,79	363,60	163,62
0,7	7,01	277,78	145,83	7,01	305,55	160,42	7,00	333,34	175,00
0,8	7,26	256,40	153,84	7,26	282,04	169,22	7,26	307,68	184,61
0,9	7,63	238,07	160,69	7,64	261,87	176,76	7,64	285,68	192,83

Tabelle 5

Molenbruch	$T/2 = 1,3$			$T/2 = 1,4$			$T/2 = 1,5$		
	p_H	x	y	p_H	x	y	p_H	x	y
0,1	5,35	722,22	54,17	5,22	777,78	83,33	5,28	833,34	62,50
0,2	5,75	619,06	92,86	5,72	666,68	100,00	5,70	714,30	107,15
0,3	6,07	541,67	121,88	6,05	583,34	131,25	6,04	625,00	140,63
0,4	6,34	481,48	144,44	6,32	518,52	155,56	6,32	555,56	166,67
0,5	6,57	433,34	162,50	6,56	466,67	175,00	6,56	500,00	187,50
0,6	6,78	393,90	177,26	6,78	424,20	190,89	6,78	454,50	204,53
0,7	7,00	361,12	189,58	7,00	388,89	204,17	7,00	416,67	218,75
0,8	7,26	333,34	200,00	7,26	358,96	215,38	7,26	384,60	230,76
0,9	7,64	309,49	208,90	7,64	333,29	224,97	7,65	357,10	241,04

Molenbruch	$T/2 = 1,6$			$T/2 = 1,7$			$T/2 = 1,8$		
	p_H	x	y	p_H	x	y	p_H	x	y
0,1									
0,2	5,68	761,92	114,29	5,66	809,54	121,43			
0,3	6,03	666,67	150,00	6,01	708,34	159,38	6,00	750,00	168,75
0,4	6,31	592,60	177,78	6,31	629,63	188,89	6,30	666,67	200,00
0,5	6,55	533,34	200,00	6,55	566,67	212,50	6,55	600,00	225,00
0,6	6,78	484,80	218,16	6,78	515,10	231,80	6,78	545,40	245,43
0,7	7,00	444,45	233,33	7,00	472,22	247,92	7,00	500,00	262,50
0,8	7,27	410,24	246,14	7,27	435,88	261,53	7,27	461,52	276,91
0,9	7,65	380,91	257,11	7,66	404,72	273,18	7,66	428,52	289,25

Tabelle 5

Molen bruch	$T/2 = 1,9$			$T/2 = 2,0$			$T/2 = 2,1$		
	p_H	x	y	p_H	x	y	p_H	x	y
0,1									
0,2									
0,3	5,99	791,67	178,13						
0,4	6,64	703,71	211,11	6,28	740,74	222,22	6,28	777,77	233,33
0,5	6,54	633,34	237,50	6,54	666,67	250,00	6,54	700,00	262,50
0,6	6,78	575,70	259,07	6,78	606,00	272,70	6,78	636,30	286,34
0,7	7,01	527,78	277,08	7,01	555,56	291,67	7,01	583,34	306,25
0,8	7,28	487,16	292,30	7,28	512,80	307,68	7,29	538,44	323,06
0,9	7,67	452,33	305,32	7,67	476,14	321,39	7,68	499,94	337,46

Molen bruch	$T/2 = 2,2$			$T/2 = 2,3$			$T/2 = 2,4$		
	p_H	x	y	p_H	x	y	p_H	x	y
0,1									
0,2									
0,3									
0,4									
0,5	6,54	733,34	225,00						
0,6	6,60	666,60	299,97	6,78	696,90	313,61	6,78	727,20	327,24
0,7	6,65	611,12	320,83	7,02	638,89	335,42	7,02	666,67	250,00
0,8	6,69	564,08	338,45	7,30	589,72	353,83	7,30	615,36	369,22
0,9	6,73	523,75	353,53	7,70	547,56	369,60	7,70	571,36	385,67

Tabelle 5

Molen- bruch	$T/2 = 2,5$		
	p_H	x	y
0,1			
0,2			
0,3			
0,4			
0,5			
0,6			
0,7			
0,8	7,31	641,00	384,60
0,9	7,71	595,17	401,74

3.) Herstellungsbedingungen und Messwerte für den Kaliumphosphatpuffer.

Folgende Vorratslösungen werden benötigt:

- a) $\left. \begin{array}{l} 2 \text{ n} \\ 5 \text{ n} \\ 8 \text{ n} \\ 10 \text{ n} \end{array} \right\} \text{ Essigsäure}$

Man geht von konzentrierter Essigsäure p.a. (E. Merck) aus, stellt zunächst 10 n Essigsäure her, die mit $\frac{1}{10}$ n NaOH (mit Methylorange als Indikator) genau eingestellt wird. Aus der so eingestellten 10 n Essigsäure kann man durch entsprechende Verdünnung die anderen Normalitäten herstellen, die aber trotzdem nochmals auf richtige Einstellung geprüft werden müssen.

b) 2 n Natriumhydroxyd-Lösung

404,14 g Natriumhydroxyd p.a. in 5 000 ccm.

Einstellen mit $\frac{1}{10}$ HCl (mit Methylorange als Indikator).

c) Bidestilliertes Wasser

Für die Herstellung des Puffers werden x ccm unter a) beschriebener Essigsäure der in der folgenden Tabelle verlangten Normalität und y ccm unter b) beschriebener 2 n Natriumhydroxyd-Lösung im 1 000 ccm Messkolben zusammengegeben und nach Abkühlen auf Zimmertemperatur bis zur Messmarke mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt.

Tabelle 6

Molen bruch	$T/2 = 0,02$			$T/2 = 0,04$			$T/2 = 0,06$		
	p_H	x $2n$	y	p_H	x $2n$	y	p_H	x $2n$	y
0,1	3,75	100,00	10,00	3,73	200,00	20,00	3,71	300,00	30,00
0,2	4,11	50,00		4,09	100,00		4,07	150,00	
0,3	4,34	33,33		4,32	66,67		4,31	100,00	
0,4	4,53	25,00		4,52	50,00		4,50	75,00	
0,5	4,71	20,00		4,69	40,00		4,68	60,00	
0,6	4,89	16,67		4,87	33,33		4,86	50,00	
0,7	5,08	14,29		4,33	28,57		5,05	42,86	
0,8	5,31	12,50		5,30	25,00		5,29	37,50	
0,9	5,67	11,11		5,65	22,22		5,64	33,33	

Molen bruch	$T/2 = 0,08$			$T/2 = 0,10$			$T/2 = 0,12$		
	p_H	x $2n$	y	p_H	x $2n$	y	p_H	x $2n$	y
0,1	3,70	400,00	40,00	3,69	500,00	50,00	3,68	600,00	60,00
0,2	4,06	200,00		4,05	250,00		4,05	300,00	
0,3	4,30	133,33		4,29	166,67		4,29	200,00	
0,4	4,50	100,00		4,49	125,00		4,48	150,00	
0,5	4,67	80,00		4,67	100,00		4,66	120,00	
0,6	4,85	66,67		4,84	83,33		4,84	100,00	
0,7	5,04	57,15		5,04	71,43		5,03	85,70	
0,8	5,28	50,00		5,27	62,50		5,27	75,00	
0,9	5,63	44,44		6,63	55,56		5,63	66,67	

Tabelle 6

Molen bruch	$T/2 = 0,14$			$T/2 = 0,16$			$T/2 = 0,18$		
	p_H	x_{2n}	y	p_H	x_{2n}	y	p_H	x_{2n}	y
0,1	3,67	700,00	70,00	3,66	800,00	80,00	3,66	900,00	90,00
0,2	4,04	350,00		4,04	400,00		4,03	450,00	
0,3	4,28	233,33		4,28	266,67		4,28	300,00	
0,4	4,48	175,00		4,48	200,00		4,47	225,00	
0,5	4,66	140,00		4,65	160,00		4,65	180,00	
0,6	4,83	116,67		4,83	133,33		4,82	150,00	
0,7	5,03	100,00		5,03	114,28		5,02	128,57	
0,8	5,27	87,50		5,26	100,00		5,26	112,50	
0,9	5,63	77,78		5,63	88,89		5,62	100,00	

Molen bruch	$T/2 = 0,20$			$T/2 = 0,40$			$T/2 = 0,60$		
	p_H	x_{5n}	y	p_H	x_{5n}	y	p_H	x_{5n}	y
0,1	3,65	400,00	100,00	3,61	800,00	200,00			300,00
0,2	4,03	200,00		4,01	400,00		4,01	600,00	
0,3	4,27	133,33		4,26	266,66		4,26	400,00	
0,4	4,47	100,00		4,46	200,00		4,47	300,00	
0,5	4,65	80,00		4,64	160,00		4,65	240,00	
0,6	4,47	66,67		4,82	133,33		4,83	200,00	
0,7	5,02	57,14		5,02	114,28		5,03	171,42	
0,8	5,26	50,00		5,26	100,00		5,27	150,00	
0,9	5,62	44,44		5,63	88,89		5,64	133,33	

Tabelle 6

Molen bruch	$T/2 = 0,80$			$T/2 = 1,00$			$T/2 = 1,20$		
	p_H	x $8n$	y	p_H	x $8n$	y	p_H	x $8n$	y
0,1									
0,2	4,02	500,00							
0,3	4,28	333,33							
0,4	4,48	250,00							
0,5	4,66	200,00		4,68	250,00				
0,6	4,85	166,67	400,00	4,86	208,33				
0,7	5,05	142,86		5,06	178,57	500,00			
0,8	5,28	125,00		5,31	156,25		5,33	187,50	
0,9	5,66	111,11		5,68	138,89		5,71	166,67	600,00

Molen bruch	$T/2 = 1,40$			$T/2 = 1,60$		
	p_H	x $8n$	y	p_H	x $10n$	y
0,1						
0,2						
0,3						
0,4						
0,5						
0,6						
0,7						
0,8	5,35	218,75		5,38	200,00	
0,9	5,74	194,44	700,00	5,76	177,77	800,00

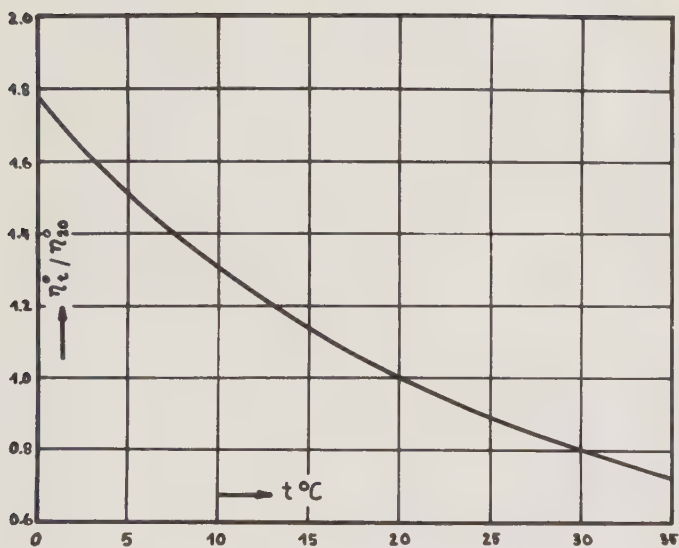


Bild 20. Temperaturabhängigkeit der Viskosität des Wassers.

IX. Literatur

- 1.) 1954, Ende, H.:
Die Darstellung von reinem Rinderfibrinogen.
Diplomarbeit, Mainz.
- 2.) 1938, Stenhagen, E.:
XCVII. Elektrophoresis of human blood plasma.
Electrophoretic properties of Fibrinogen.
Biochem. J., 32, 714.
- 3.) 1944, Dole, V. P. and Braun, E.:
The electrophoretic pattern of normal plasma.
J. Clin. Invest., 23, 708 - 713.
- 4.) 1947, Armstrong, S. H. Jr., Budka, M. J. E. und Morrison, K. C.:
Preparation and properties of serum and plasma proteins. XI. Quantitativ interpretation of electrophoretic Schlieren diagrams of normal human plasma.
J. Am. Chem. Soc., 69, 416 - 429.
- 5.) 1948, Avery, A. und Munro, F. L.:
Chemical and electrophoretic studies of fibrinogen, prepared by various methods.
Arch. Biochem., 16, 33 - 38.
- 6.) 1950, Mihályi, E.:
Electrophoretic investigation of fibrin and fibrinogen dissolved in urea solutions.
Acta Chem. Scand., 4, 351 - 8.
- 7.) 1945, Seegers, H. W., Niefert, M. L. und Vandenbelt, J. M.:
Decomposition products of fibrinogen and fibrin.
Arch. Biochem., 7, 15.

- 8.) 1950, Koenig, V. L.:
Partial specific volumes for some porcine and bovine plasma protein fractions.
Arch. Biochem., 25, 241.
- 9.) 1944, Holmberg, C. G.:
Cleavage of fibrin by fibrolysin from hemolytic streptococci.
Arkiv Kemi Mineral. Geol., 17 A, No. 28.
- 10.) 1947, Hawn, C. V. Z. und Porter, K. R.:
The fine structure of clots formed from purified bovine fibrinogen and thrombin: a study with the electron microscope.
J. Exptl. Med., 86, 285.
- 11.) 1949, Hall, C. E.:
Electron microscopy of fibrinogen and fibrin.
J. Biol. Chem., 179, 857 - 864.
- 12.) 1949, Hall, C. E.:
Studies of fibrinogen and fibrin with the electron microscope.
J. Am. Chem. Soc., 71, 1138 - 1139.
- 13.) 1946, Nanninga, L. B.:
Fibrinogen-preparation, photoelectric determination, molecular weight and viscosity and formal-titration before and after clotting.
Arch. neerland. physiol., 28, 241 - 276.
- 14.) 1951, Steiner, R. F. und Laki, K.:
Light-scattering studies on the clotting of fibrinogen.
Arch. Biochem., 34, 24 - 37.
- 15.) 1951, Steiner, R. F. und Laki, K.:
Light-scattering studies on fibrinogen.
J. Am. Chem. Soc., 73, 882 - 3.

- 16.) 1952, Hocking, C. S., Laskowski, jr., M. und Scheraga, A. H.:
Size and shape of bovine fibrinogen.
J. Am. Chem. Soc., 74, 775 - 78.
- 17.) 1952, Katz, S., Gutfreund, K., Shulman, S. und Ferry, J. D.:
The conversion of fibrinogen to fibrin. X. Lightscattering
studies of bovine fibrinogen.
J. Am. Chem. Soc., 74, 5706 - 5709.
- 18.) 1952, Ferry, J. D., Shulman, S., Gutfreund, K. und Katz, S.:
The conversion of fibrinogen to fibrin. XI. Light-scattering
studies on clotting systems inhibited by hexamethylene glycol.
J. Am. Chem. Soc., 74, 5709 - 5715.
- 19.) 1953, Shulman, S.:
The size and shape of bovine fibrinogen. Studies of sedimentation,
diffusion and viscosity.
J. Am. Chem. Soc., 75, 5846 - 52.
- 20.) 1947, Oncley, J. L., Scatchard, G. und Brown, A.:
Physical-chemical characteristics of certain of the proteins
of normal human plasma.
J. Phys. Coll. Chem., 51, 184.
- 21.) 1947, Armstrong, S. H., Jr., Budka, M. J. E., Gross, P. und
Hasson:
Preparation and properties of serum and plasma proteins.
XII. The refractive properties of the proteins of human plasma
and certain purified fractions.
J. Am. Chem. Soc., 69, 1747.
- 22.) 1952, Laki, K. und Steiner, R.:
Polymerisation of iodinated fibrinogen.
J. Polym. Sci., 8, 457 - 465.
- 23.) 1951, Laki, K.:
The polymerisation of proteins: The action of thrombin on
fibrinogen.
Arch. Biochem., 32, 317 - 324.

- 24.) 1951, Waugh, D. F. und Livingstone, B. J.:
Kinetics of the interaction of bovine fibrinogen and thrombin.
J. physic. Chem., 55, 1206 - 1218.
- 25.) 1952, Scheraga, H. A. und Nims, L. F.:
The action of X-rays of fibrinogen solutions.
Arch. Biochem., 36, 336 - 344.
- 26.) 1949, Edsall, J. T.:
The size and shape of protein molecules.
Fortschr. Chem. Forsch., 1, 119 - 174.
- 27.) 1943, Cohn, E. J. und Edsall, J. T.:
Proteins, amino acids and peptides.
Buch; American Chemical Society Monograph Series; Rheinhold
publishing corporation.
- 28.) 1944, Cohn, E. J., Oncley, J. L., Strong, L. E., Hughes, W. L.,
Jr. und Armstrong, S. H., Jr.:
Chemical, clinical and immunological studies on the products
of human plasma fractionation. I. The charakterisation of the
protein fractions of human plasma.
J. Clin. Investigation, 23, 417 - 432.
- 29.) 1947, Edsall, J. T.:
The plasma proteins and their fractionation.
Advances in Protein Chemistry III, 383 - 479.
- 30.) 1949, Edsall, J. T.:
Aspects of the structure and reaktionen of proteins.
Frontiers in Chemistry, 6, 145 - 209.
- 31.) 1951, Edsall, J. T. und Dandliker, W. B.:
Light-scattering in solutions of proteins and other large mole-
cules.
Fortschr. Chem. Forsch., 2, 1 - 56.

- 32.) 1950, Koenig, V. L. und Pederson, K. O.:
Ultracentrifugal study of bovine plasma protein fractions.
Arch. Biochem., 25, 97 - 108.
- 33.) 1952, Koenig, V. L. und Perrings, J. D.:
Critical ultracentrifugal and viscosity studies on bovine fibrinogen.
Arch. Biochem., 36, 147 - 157.
- 34.) 1951, Shulman, S. und Ferry, J. D.:
The conversion of fibrinogen to fibrin. III. Sedimentation and viscosity studies on clotting systems inhibited by hexamethylene glycol.
J. Phys. Coll. Chem., 55, 135.
- 35.) 1951, Shulman, S.:
The conversion of fibrinogen to fibrin. IV. Reversible inhibition of the reaction.
Arch. Biochem., 30, 353.
- 36.) 1951, Foster, J. F., Samsa, E. G., Shulman, S. und Ferry, J. D.:
The conversion of fibrinogen to fibrin. VI. Flow birefringence studies on clotting systems inhibited by hexamethylene glycol.
Arch. Biochem., 34, 417 - 423.
- 37.) 1947, Edsall, J. T., Foster, J. F. und Scheinberg, J. H.:
Preparation and properties of serum and plasma proteins.
XVI. Double refraction of flow of fibrinogen.
J. Am. Chem. Soc., 59, 2731 - 8.
- 38.) 1942, Csokán, P. und Laki, K.:
Zur Struktur der Proteine.
Z. physik. Chem. A, 190, 278.
- 39.) 1952, Zahn, H.:
Über den Feinbau einiger Proteine.
Angew. Chem., 64, 295 - 308.

- 40.) 1953, Edsall, J. T.:
The physical chemistry of proteins. Sixth spiers memorial lecture. The molecular shapes of certain proteins and some of their interactions with other substances.
Farad. Soc. Disc., 1953, No. 13, 9 - 28.
- 41.) 1948, Wunderly, Ch.:
Gerinnungsstudien auf Grund der Messungen der Sol/Gel Umwandlungszeit.
Helv. Chim. Acta, 31, 49.
- 42.) 1950, Mihályi, E.:
The urea denaturation of fibrinogen. II. Physicochemical changes.
Acta Chem. Scand., 4, 334 - 343.
- 43.) 1950, Mihályi, E.:
Properties of fibrin dissolved in urea solutions.
Acta Chem. Scand., 4, 344 - 350.
- 44.) 1946, Hogness, K. R., Giffie, J. W. und Koenig, V. L.:
Electrophoretic analysis of bovine plasma and serum.
Arch. Biochem., 10, 281.
- 45.) 1945, Deutsch, H. F. und Goodloe, M. B.:
An electrophoretic survey of various animal plasma.
J. Biol. Chem., 161, 1.
- 46.) 1938, Stenhagen, E.:
XCVII. Electrophoresis of human blood plasma. Electrophoretic properties of fibrinogen.
Biochem., J., 32, 714.
- 47.) 1949, Koenig, V. L., Perrings, J. D. und Mundy, F.:
Electrophoretic annalysis of lamb and sheep plasmas and serums.
Arch. Biochem., 22, 377 - 385.

48.) 1947, Oncley, J. L.:

The size, shape and charge distribution of protein molecules.
Science New York, 106, 509 - 510.

49.) 1944, Scatchard, G., Batchelder, A. C. und Brown, A.:

The osmotic pressure of plasma and of serum albumin.
J. Clin. Invest., 23, 458.

50.) 1940, Cohn, E. J., Mc Meekin, T. L., Oncley, J. L., Newell, J. M. und Hughes, W. L., Jr.:

Preparation and properties of serum and plasma proteins.

I. Size and charge of proteins. Separating upon equilibration across membranes with ammoniumsulfate solutions of controlled p_H , ionic strength and temperature.

J. Am. Chem. Soc., 62, 3386.

51.) 1940, Cohn, E. J., Luetscher, J. A., Jr., Oncley, J. L., Armstrong, S. H., Jr. und Davis, B. D.:

Preparation and Properties of serum and plasma proteins.

III. Size and charge of proteins. Separating upon equilibration across membranes with ethanol - water mixtures of controlled p_H , ionic strength and temperature.

J. Am. Chem. Soc., 62, 3396.

52.) 1947, Ferry, J. D. und Morrison, R. R.:

Preparation and properties of serum and plasma proteins.

VIII. The conversion of human fibrinogen to fibrin under various conditions.

J. Am. Chem. Soc., 62, 388 - 400.

53.) 1951, Lever, W. F., Gurd, F. R. N., Brown, R. K., Barnes, B. A.; Schmid, K. und Schultz, E. L.:

Chemical, clinical and immunological studies on the products of human plasma fractionation. XL. Quantitative separation and determination of the protein components in small amounts of normal human plasma.

J. Clin. Invest., 30, 99 - 111.

- 54.) 1954, Ferry, J. D., Katz, S. und Tinoco, Jr.,:
Some aspects of the polymerization of fibrinogen.
J. Polym. Sci., 12, 509 - 516.
- 55.) 1952, Gerf, R. und Scheraga, H. A.:
Flow birefringence in solutions of macromolecules.
Chem. Reviews, 51, 185 - 261.
- 56.) 1949, Porter, K. R. und Hawn, C. V. Z.:
Sequences in the formation of clots from purified bovine
fibrinogen and thrombin: A study with the electronmicroscope.
J. Exptl. Med., 90, 225 - 233.
- 57.) 1952, Mitchell, R. F.:
Examination of some plasma proteins by electron microscopy.
Biochem. et Biophys. Acta, 9, 430 - 442.
- 58.) 1954, Edsall, J. T.:
Configuration of certain protein molecules. An inquiry concern-
ing the present status of our knowledge.
J. Polym. Sci., 12, 253 - 280.
- 59.) 1951, Steiner, R. F.:
Light-scattering studies on the clotting of fibrinogen.
Arch. Biochem. Biophysics, 34, 529 - 542.
- 60.) 1947, Ferry, J. D. und Morrison, P. R.:
Preparation and properties of serum and plasma proteins.
VIII. The conversion of human fibrinogen to fibrin under
various conditions.
J. Am. Chem. Soc., 69, 388 - 400.
- 61.) 1950, Kratz, L.:
Die Glaselektrode und ihre Anwendung.
Wissenschaftliche Forschungsberichte. Naturwissenschaftliche
Reihe, Band 59; Verlag Steinkopff, Frankfurt/M.

- 62.) 1941, Bamann, E. und Myrbäck, K.:
Die Methoden der Fermentforschung.
Buch; Georg Thieme, Verlag, Leipzig,
Band 1, 777 - 791.
- 63.) 1949, Kordatzki, W.:
Taschenbuch der praktischen p_H -Messung.
Buch; Verlag von R. Müller u. Steinicke, München.
- 64.) 1950, Brodersen, R.:
Buffers in biochemistry.
Z. Vitamin-, Hormon- und Fermentforschung, 3, 533 - 9.
- 65.) 1927, Cohn, E. J.:
The activity coefficients of the ions in certain phosphate solutions.
J. Am. Chem. Soc., 49, 173.
- 66.) 1928, Cohn, E. J., Heyroth, F. F. und Menkin, M. F.:
The dissociation constant of acetic acid and the activity coefficients of ions in certain acetate solutions.
J. Am. Chem. Soc., 50, 696.
- 67.) 1928, Cohn, E. J. und Green, A. A.:
Proceedings of the American Society of Biological Chemists.
22. annual meeting. Ann Arbor, Michigan, April 12 - 14, 1928.
Physicochemical methods of characterizing proteins. VIII. The apparent dissociation constants of proteins calculated from their solubilities and activity coefficients in concentrated salt solutions.
J. Biol. Chem., 78, XXXII - XXXIV (Anhang).
- 68.) 1931, Green, A. A.:
Studies in physical chemistry of the proteins. IX. The effect of Hemoglobin in solutions of varying hydrogen ion activity with a note on the comparable behavior of casein.
J. Biol. Chem., 93, 517.

- 69.) 1931, Green, A. A.:
Studies on the physical chemistry of proteins. VIII. The solubility of hemoglobin in concentrated salt solutions. A study of salting out of proteins.
J. Biol. Chem., 93, 495 - 516.
- 70.) 1930, Florkin, M.:
Studies in the physical chemistry of the proteins. VII. The solubility of fibrinogen in concentrated salt solutions.
J. Biol. Chem., 87, 629.
- 71.) 1933, Green, A. A.:
The preparation of acetate and phosphate buffer solutions of known p_H and ionic strength.
J. Am. Chem. Soc., 55, 2331.
- 72.) 1944, Astrup, T.:
Biochemistry of blood coagulation.
Acta Physiologica Scandinavia, 21, 56 - 90.
- 73.) 1945, Boyd, W. C.:
A nomogramm for acetate buffers.
J. Am. Chem. Soc., 67, 1035.
- 74.) 1942, Astrup, T.:
Die Thrombinwirkung. Eine Enzymreaktion, die unter dem Einfluss der Ionenstärke steht.
Biochem. Z., 313, 229.
- 75.) 1931, Michaelis, L.:
Der Acetat-Veronal-Puffer.
Biochem. Z., 234, 139.
- 76.) 1923, Debye, P. und Hückel, E.:
Zur Theorie der Elektrolyte.
Physik. Z., 24, 185 - 206.

77.) 1925, Kückel, E.:

Zur Theorie konzentrierter wässriger Lösungen starker Elektrolyte.

Physik. Z., 26, 93 - 147.

78.) 1940, Svedberg, Th. und Pedersen, K. O.:

Die Ultrazentrifuge. Theorie, Konstruktion und Ergebnisse.

Buch. Verlag von Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig.

Seiten 5 - 59.

79.) 1955, Meyerhoff, G.:

Bestimmung des Molekulargewichtes durch Diffusions- und Sedimentationsmessungen (Ultrazentrifuge).

In Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie. Band III,

Teil 1. Physikalische Forschungsmethoden. Seiten 390 - 408.

80.) 1953, Hengstenberg, J.:

Sedimentation und Diffusion von Makromolekülen.

In E. A. Stuart: Physik der Hochpolymeren. Band II, Springer-Verlag; Berlin, Göttingen, Heidelberg. Seiten 411 - 494.

81.) 1949, Geddes, A. L.:

Determination of diffusivity.

In A. Weissberger: Technique of organic Chemistry. I. Physical methods of organic chemistry. Teil I, Seiten 551 - 619.

Interscience Publishers, New York.

82.) 1949, Nichols, J. B. und Baiby, E. D.:

Determinations with the ultracentrifuge.

In A. Weissberger: Technique of organic chemistry. I. Physical methods of organic chemistry, Teil I, Seiten 621 - 730.

83.) 1952, Schulz, G. V. und Meyerhoff, G.:

Über den Lösungszustand makromolekularer Stoffe. 12. Über den 2. Virialkoeffizienten des osmotischen Druckes und seine Ermittlung durch Messung der Diffusionskonstante und der Sedimentationskonstante in der Ultrazentrifuge.

Z. Elektroch., 56, 545 - 551.

- 84.) 1944, Schulz, G. V.:
Über Beziehungen zwischen osmotischem Druck, Diffusionskonstante und den mit der Ultrazentrifuge ermittelten Grössen bei Nichtzutreffen der Grenzzesetze für verdünnte Lösungen.
Z. P hys. Chem., 193, 168 - 187.
- 85.) 1910, Einstein, A.:
Theorie der Opaleszenz von homogenen Flüssigkeiten und Flüssigkeitsgemischen in der Nähe des kritischen Zustandes.
Ann. Physik, 33, 1275 - 1298.
- 86.) 1908, Smoluchowski, M. v.:
2. Molekular-kinetische Theorie der Opaleszenz von Gasen im kritischen Zustande, sowie einiger verwandter Erscheinungen.
Ann. Physik, 25, 205 - 226.
- 87.) 1944, Debye, P.:
Light-scattering in solutions.
J. Appl. Physics, 15, 338 - 42.
- 88.) 1933, Herzog, R. O., Illig, R. und Kudar, H.:
Über die Diffusion in molekulardispersen Lösungen.
Z. Physik. Chem., A 167, 329 - 342.
- 89.) 1936, Perrin, P. F.:
Mouvement brownien d'un ellipsoïde. II. Rotation libre et dépolarisation des fluorescences. Translation et diffusion de molécules ellipsoïdales.
J. Phys. Radium, 7, 1 - 11.
- 90.) 1929, Svedberg, T. und Katsurai, T.:
Molecular weights of phycocyan and of phycoerythrin from porphyra tenera and of phycocyan from aphanizomenon flos aquae.
J. Am. Chem. Soc., 51, 3573 - 83.

- 91.) 1937, Lamm, O.:
Measurements of concentration gradients in sedimentation and diffusion by refractive methods.
Dissertation, Nova Acta Regiae. Sci. Upsaliensis, Ser. IV, 10, No. 6.
- 92.) 1936, Lamm, O. und Polson, A.:
LXXVIII. The determination of diffusion constants of proteins by a refractometric method.
Biochem. J., 30, 528.
- 93.) 1936, Polson, A.:
Determination of particle weight and shape from diffusion and viscosity data.
Nature, 137, 740.
- 94.) 1939, Polson, A.:
Untersuchungen über die Diffusionskonstanten der Proteine.
Kolloid-Z., 87, 149 - 181.
- 95.) 1928, Lamm, O.:
Zur Bestimmung von Konzentrationsgradienten mittels gekrümmter Lichtstrahlen. Eine neue Beobachtungsmethode.
Z. Physik. Chem., 138, 313 - 331.
- 96.) 1929, Lamm, O.:
Zur Theorie und Methodik der Ultrazentrifugierung.
Z. Physik. Chem., 143, 177 - 190.
- 97.) 1893, Wiener, O.:
Darstellung gekrümmter Lichtstrahlen und Verwertung derselben zur Untersuchung von Diffusion und Wärmeleitung.
Ann. der Physik, 49, 105 - 149.
- 98.) 1938, Philpot, J. St. L.:
Direct photography of ultracentrifuge sedimentation curves.
Nature, 141, 283 - 284.

- 99.) 1939, Svensson, H.:
Direkte photographische Aufnahme von Elektrophorese-Diagrammen.
Koll. Z., 87, 181 - 186.
- 100.) 1946, Claesson, S.:
A new type of diffusion cell.
Nature, 158, 834 - 835.
- 101.) 1951, Meyerhoff, G.:
Zur Methodik der Diffusionsmessungen in organischen Lösungsmitteln.
Makromolekulare Chem., 6, 197 - 205.
- 102.) 1954, Schulz, G. V. und Cantow, H. J.:
Vorschlag zur Unterscheidung der 2 Grössen: "Grenzviskositätszahl" und "konventionelle Viskositätszahl".
Makromolekulare Chem., 8, 71 - 75.
- 103.) 1952, Stuart, H. A.:
Lichtzerstreuung, Polarisierbarkeit und Molekülstruktur.
In H. A. Stuart: Physik der Hochpolymeren, Band I, Springer-Verlag; Berlin, Göttingen, Heidelberg, Seiten 338 - 414
- 104.) 1953, Stuart, H. A.:
Lichtzerstreuung an Lösungen mit Kornmolekülen und Kolloidteilchen.
In H. A. Stuart: Physik der Hochpolymeren, Band II, Springer-Verlag; Berlin, Göttingen, Heidelberg. Seiten 495 - 514.
- 105.) 1955, Stuart, H. A.:
Lichtzerstreuung.
In Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie, Band III, Physikalische Forschungsmethoden, Teil 2. Seiten 447 - 476.
- 106.) 1955, Cantow, H. J.:
Molekulargewichtsbestimmung an makromolekularen Stoffen.
C. Streulichtmethode.
In Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie, Band III, Physikalische Forschungsmethoden, Teil 1. Seiten 408 - 431

- 107.) 1945, Zimm, B. H., Stein, R. S. und Doty, P.:
Classical theory of light-scattering from solutions. A review.
Polymer Bulletin, 1, 90 - 119.
- 108.) 1948, Zimm, B. H.:
The scattering of light and the radial distribution function
of high polymer solutions.
J. Chem. Physics, 16, 1093 - 1099.
- 109.) 1947, Debye, P.:
Molecular-weight determination by light-scattering.
J. Physic. Colloid Chem., 51, 18 - 32.
- 110.) 1943, Keugebauer, T.:
Berechnung der Lichtstreuung von Fadenkettenlösungen.
Ann. Phys., 42, 509 - 533.
- 111.) 1951, Horn, P., Benoit, H. und Oster, G.:
Etude de la lumière diffusée par des solutions très diluées
de bâtonnets optiquement anisotropes.
J. Chim. Phys., 48, 530 - 535.
- 112.) 1953, Benoit, H. und Doty, P.:
Light-scattering from non-Gaussian chains.
J. Physik. Chem., 57, 958.
- 113.) 1947, Roess, L. G. und Shull, C. G.:
X - ray scattering at small angles by finely divided solids.
I. General approximate theory and applications. II. Exact
theory for random distributions of spheroidal particles.
J. appl. Physics, 18, 395 - 307 und 308 - 313.
- 114.) 1951, Saito, N. und Ikéda, Y.:
Light-scattering by nonspherical particles in solutions.
J. of the physical Soc. of Japan, 6, 305 - 308.

- 115.) 1948, Schulz, G. V. und Harborth, G.:
Die Bestimmung des Molekulargewichtes und der räumlichen Ausdehnung von Fadenmolekülen nach der Streulichtmethode.
Makromolekulare Chem., 2, 187 - 200.
- 116.) 1950, Doty, P. und Steiner, F.:
Light-scattering and spectrophotometry of colloidal solutions.
J. Chem. Physics, 18, 1211 - 1220.
- 117.) 1929, Cabannes, J.:
La Diffusion Moléculaire de la Lumière.
Buch. Verlag: Presses Univ. de France, Paris.
- 118.) 1954, Reik, H. G. und Gebert, F.:
Zur Thermodynamik verdünnter makromolekularer Lösungen I.
Z. f. Elektrochemie, 58, 458 - 467.
- 119.) 1952, Schulz, G. V. und Doll, H.:
Thermodynamische Analyse der Lösungen von Polymethacrylsäureester in verschiedenen Lösungsmitteln.
Z. f. Elektrochemie, 56, 248 - 257.
- 120.) 1954, Cantow, H. J. und Schulz, G. V.:
Streulichtmessungen an Lösungen von Polymethacrylsäuremethylestern. I. Konstruktion eines Streulichtphotometers und dessen Eichung durch Messungen im Rayleighbereich.
- 121.) 1955, Bücher, Th. und Mohring, D.:
Kohärente Lichtstreuung in Lösung grosser Moleküle.
In Hoppe-Seyler/Thierfelder, Analyse, 10. Aufl., Band II, Springer-Verlag, Heidelberg.
- 122.) 1952, Schulz, G. V., Bodmann, O. und Cantow, H.-J.:
Über ein neues, hochempfindliches Differentialrefraktometer.
Z. f. Naturf., 7a, 760 - 763.

- 123.) 1955, Bodmann, O.:
Ein verbessertes Differentialrefraktometer und refraktometrische Präzisionsmessungen mit Lösungen hochpolymerer Substanzen.
Dissertation, Mainz.
- 124.) 1935, Roth, W. A. und Scheel, K.:
Landolt-Börnstein. Physikalisch-chemische Tabellen.
Tabellenwerk: 3. Ergänzungsband, zweiter Teil, Seite 1673.
- 125.) 1934, Jasse, O.:
Mesures d'indices de l'eau par une méthode interférentielle.
C. r., 198, 163 - 164.
- 126.) 1955, Cantow, H.-J.:
Zur Frage der Absoluteichung von Streulichtmessungen.
La Ricerca Scientifica, Anno 25^o - 1955 (Simposio Internazionale di Chimica Makromolecolare).
- 127.) 1931, Lowry, T. M. und Allsopp, C. B.:
Refractive dispersion of organic compounds.
Proc. Roy. Soc. (A), 133, 26 - 59.
- 128.) 1927, Voellmy, H.:
Über die Dispersion ultravioletter Strahlen durch flüssige organische Substanzen.
Z. Physik. Chem., 127, 305 - 357.
- 129.) 1950, Timmermann, J.:
Physico-chemical constants of pure organic compounds.
Buch: Elsevier publishing company, Inc. New York, Amsterdam, London, Brüssel.
- 130.) 1952, Thurmond, C. D.:
Control of dust in solutions for turbidimetry.
J. Polymer Sci., 8, 607 - 609.

- 131.) 1943, D'Ans, J. und Lax, E.:
Taschenbuch für Chemiker und Physiker.
Buch. Springer-Verlag, Berlin. Seite 765.
- 132.) 1953, Schluge, H.:
Das AEG-Zeiss Elektronenmikroskop EM 8.
Zeiss-Werkzeitschrift Nr. 14, Seiten 1 - 12.
- 133.) 1952, Schluge, H.:
Das AEG-Zeiss Elektronenmikroskop EM 8.
Pharm. Ind., 14, 121 - 122.
- 134.) 1954, Volkmann, H.:
Der Stand der Elektronenmikroskopie in Deutschland.
Optiker-Jahrbuch 1953 - 1954, Seiten 1 - 8.
Verlag: Süddeutsche Optikerzeitung, Stuttgart.
- 135.) 1939, Mahl, H.:
Diatomeenaufnahmen mit dem elektrischen Übermikroskop.
Naturwissensch., 27, 417.
- 136.) 1945, Mahl, H.:
Die elektronenmikroskopische Untersuchung von Oberflächen.
Ergebnisse d. exakten Naturw., 21, 262 - 312.
- 137.) 1947, Oster, G., Doty, P. M. und Zimm, B. H.:
Light-scattering studies of tobacco mosaic virus.
J. Am. Chem. Soc., 69, 1193 - 1197.
- 138.) 1946, Lauffer, M. A.:
Contributions of virus research to chemistry and physics.
Chem. Eng. News, 24, 2896 - 2903.

- 139.) 1950, Edsall, J. T., Edelhoeh, H., Lontie, R. und Morrison, F. R.:
Light-scattering in solutions of serum albumin: Effects of charge and ionic strength.
J. Am. Chem. Soc., 72, 4641 - 4656.
- 140.) 1946, Scatchard, G.:
Physical chemistry of protein solutions. I. Derivation of the equations for the osmotic pressure.
J. Am. Chem. Soc., 68, 2315 - 2319.
- 141.) 1946, Scatchard, G., Batchelder, A. C. und Brown, A.:
Preparation and properties of serum and plasma proteins. VI. Osmotic equilibria in solutions of serum albumin and sodium chloride.
J. Am. Chem. Soc., 68, 2320 - 2329.
- 142.) 1915, Zernike, F.:
L'Opalescence Critique.
Dissertation Amsterdam.
- 143.) 1949, Brinkmann, H. C. und Hermans, J. J.:
The effect of non-homogeneity of molecular weight on the scattering of light by high polymer solutions.
J. Chem. Phys., 17, 574 - 576.
- 144.) 1950, Kirkwood, J. G. und Goldberg, R. J.:
Light-scattering arising from composition fluctuations in multi-component systems.
J. Chem. Phys., 18, 54 - 57.
- 145.) 1950, Stockmayer, W. H.:
Light-scattering in multi-component systems.
J. Chem. Phys., 18, 58 - 61.

Lebenslauf

Am 15. 5. 1927 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Berthold Ende und seiner Ehefrau Anny, geb. Scherer, in Düsseldorf geboren. Nach vierjähriger Grundschulausbildung besuchte ich ab Ostern 1937 die Oberschule in Düsseldorf, seit 1943 das Musische Gymnasium in Frankfurt und bestand im Dezember 1946 die Reifeprüfung am Realgymnasium in Wiesbaden. Im Januar 1947 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg - Universität zu Mainz, wo ich im Juli 1949 das Vordiplomexamen und im September 1954 die Diplom-Chemiker-Hauptprüfung ablegte. Die vorliegende Dissertation ist eine Fortführung der von 1951 bis 1954 im Institut für physikalische Chemie durchgeführten Diplomarbeit.

